

**REF** 202400 NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip**Rx Only**

ATTENZIONE: solo per il mercato extra USA

**IVD** Per uso diagnostico *in vitro* con NeuMoDx™ 288 e NeuMoDx™ 96 Molecular System

Prima di utilizzare il prodotto, leggere attentamente il presente foglio illustrativo e attenersi scrupolosamente alle istruzioni in esso riportate.



In caso di deviazioni dalle istruzioni fornite nel presente foglio illustrativo, l'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita.

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx™ 288 Molecular System; P/N 40600108.

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx™ 96 Molecular System; P/N 40600317.



### USO PREVISTO

Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay è un test automatizzato *in vitro* di amplificazione degli acidi nucleici per la quantificazione e la differenziazione del DNA del virus herpes simplex di tipo 1 (HSV-1, herpesvirus alfa umano 1) e/o del DNA del virus herpes simplex di tipo 2 (HSV-2, herpesvirus alfa umano 2) in plasma EDTA da pazienti trapiantati immunocompromessi<sup>1,2</sup>.

Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay eseguito sul NeuMoDx™ 288 Molecular System e sul NeuMoDx™ 96 Molecular System comprende l'estrazione automatizzata del DNA per isolare gli acidi nucleici target dal campione e la PCR real-time per amplificare due regioni altamente conservate nei genomi di HSV-1 e HSV-2.

Il test è volto ad agevolare il monitoraggio dei livelli di DNA di HSV-1 e/o HSV-2 nel plasma EDTA. Questo test è destinato a essere usato insieme al quadro clinico e ad altri indicatori di laboratorio di progressione della malattia per la gestione clinica e il monitoraggio delle infezioni da HSV-1 e/o HSV-2.

Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay non deve essere usato come test di screening per rilevare la presenza di DNA di HSV-1/HSV-2 nel sangue o nei suoi derivati.

Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay è destinato all'uso da parte del personale dei laboratori clinici addestrato e formato in maniera specifica sulle tecniche di PCR real-time e sulle procedure diagnostiche *in vitro* e/o sull'uso dei NeuMoDx™ Molecular Systems. Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay non è destinato all'autodiagnosi o all'uso come test point-of-care.

### SINTESI E SPIEGAZIONE

Per la preparazione del plasma, può essere usato sangue umano intero raccolto in provette sterili contenenti EDTA come agente anticoagulante o in provette di preparazione del plasma (PPT, Plasma Preparation Tube). Per iniziare l'analisi, il plasma, contenuto in una provetta per campioni primaria o secondaria compatibile con il NeuMoDx™ System, viene caricato sul NeuMoDx™ System con un apposito portaprovette per campioni per avviare l'elaborazione automatizzata.

Un'aliquota di 550 µL di campione viene miscelata con il NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 e il NeuMoDx™ System esegue automaticamente tutti i passaggi necessari per estrarre l'acido nucleico target, preparare il DNA isolato per l'amplificazione mediante PCR real-time e, se presenti, amplificare e rilevare i prodotti dell'amplificazione. Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay include un controllo di elaborazione dei campioni di DNA (SPC1, Sample Process Control 1) che contribuisce a monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie, nonché gli errori relativi al NeuMoDx™ System o ai reagenti che si possono verificare durante il processo di estrazione e di amplificazione.

L'HSV-1 e l'HSV-2 causano infezioni comuni in tutto il mondo. Negli Stati Uniti, la sieroprevalenza dell'HSV-1 e dell'HSV-2 è, rispettivamente, del 58% e del 17%. La trasmissione di questi virus avviene per contatto diretto con la cute o le secrezioni infette. La trasmissione può avvenire durante periodi di shedding virale subclinico in cui i sintomi sono assenti<sup>3,4</sup>.

Negli adulti immunocompetenti, l'HSV-1 e l'HSV-2 causano entrambi una serie di infezioni primarie a carico delle superfici mucocutanee. Le sindromi si sovrappongono, ma l'HSV-1 provoca generalmente l'herpes labiale, mentre l'HSV-2 provoca l'herpes genitale. Entrambe le sindromi sono caratterizzate da vescicole ulcerate e dolorose a carico della cute e delle membrane mucose della zona colpita. Dopo l'infezione primaria, l'HSV-1 e l'HSV-2 stabiliscono un'infezione latente a livello dei neuroni dei gangli sensoriali. La riattivazione del virus latente provoca sindromi mucocutanee ricorrenti. Negli adulti immunocompetenti, le forme gravi di malattia da HSV-1 o HSV-2 non sono comuni. Tuttavia, possono insorgere sindromi neurologiche importanti, tra cui la paralisi di Bell, la meningite e l'encefalite, che sono associate a una morbilità e una mortalità significative, se non trattate tempestivamente. I pazienti immunocompromessi affetti da malattia da HSV sviluppano più comunemente una sindrome mucocutanea a causa della riattivazione dell'infezione latente<sup>3,4,5</sup>.

I soggetti immunocompromessi sono inoltre a rischio di estensione locale della malattia (per es. esofagite da HSV) e di infezione disseminata. L'infezione disseminata da HSV che coinvolge organi viscerali non contigui è associata a una mortalità molto elevata, in particolare in caso di epatite da HSV<sup>3,4,5</sup>.

### PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay sul NeuMoDx™ System utilizza la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, i NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators, i NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls, il NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 e i reagenti NeuMoDx™ di uso generale per eseguire l'analisi. Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay combina estrazione, amplificazione e rilevazione automatizzate del DNA mediante PCR real-time. I campioni di plasma, in provette per campioni primarie o secondarie compatibili con il NeuMoDx™ System, vengono inseriti in un portaprovette, che viene successivamente caricato sul NeuMoDx™ System per l'elaborazione. Non sono necessari ulteriori interventi da parte dell'operatore.

I NeuMoDx™ Systems utilizzano una combinazione di calore, enzima litico e reagenti di estrazione per eseguire automaticamente la lisi cellulare, l'estrazione del DNA e la rimozione degli inibitori. Gli acidi nucleici rilasciati vengono catturati da microsferi ad affinità magnetica. Le microsferi, con gli acidi nucleici legati, vengono caricate nella NeuMoDx™ Cartridge dove i componenti non legati diversi dal DNA vengono ulteriormente rimossi con il NeuMoDx™ Wash Reagent e il DNA legato viene eluito utilizzando il NeuMoDx™ Release Reagent. I NeuMoDx™ Systems usano quindi il DNA eluito per reidratare i reagenti di amplificazione liofilizzati di proprietà esclusiva di SENTINEL CH. S.p.A. contenenti tutti gli elementi necessari per l'amplificazione dei target specifici per HSV-1/HSV-2 e del target SPC1. Dopo la ricostituzione dei reagenti per PCR liofilizzati, il NeuMoDx™ System dispensa la miscela pronta per la PCR nella NeuMoDx™ Cartridge. L'amplificazione e la rilevazione del controllo e delle sequenze di DNA target (se presenti) si verificano nell'area della camera per PCR della NeuMoDx™ Cartridge. La NeuMoDx™ Cartridge è progettata anche per contenere l'amplicone dopo la PCR real-time ed eliminare sostanzialmente il rischio di contaminazione post-amplificazione.

I target genomici per la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip sono rispettivamente i geni US6 e UL45 per il virus HSV-1 e i geni US6 e UL30 per il virus HSV-2. Tali target amplificati vengono rilevati in tempo reale utilizzando la chimica delle sonde a idrolisi (comunemente definita chimica TaqMan®) che impiega molecole delle sonde oligonucleotidiche fluorogeniche specifiche per gli ampliconi per i rispettivi target. Le sonde TaqMan® sono costituite da un fluoroforo legato in modo covalente all'estremità 5' della sonda oligonucleotidica e da un quencher all'estremità 3'. Mentre la sonda è intatta, il fluoroforo e il quencher sono in prossimità e la molecola quencher spegne la fluorescenza emessa dal fluoroforo mediante il trasferimento di energia per risonanza di Förster (FRET, Förster Resonance Energy Transfer). Le sonde TaqMan® sono progettate per eseguire l'annealing all'interno di una regione del DNA amplificata da un set specifico di primer. Quando la Taq DNA polimerasi estende il primer e sintetizza il nuovo filamento, l'attività esonucleasica 5'-3' della Taq DNA polimerasi degrada la sonda che ha eseguito l'annealing allo stampo. La degradazione della sonda rilascia il fluoroforo e interrompe la stretta vicinanza al quencher, superando quindi l'effetto di smorzamento dovuto al FRET e consentendo la rilevazione della fluorescenza del fluoroforo. Il segnale fluorescente risultante rilevato nel termociclatore per PCR quantitativa del NeuMoDx™ System è direttamente proporzionale al fluoroforo rilasciato e può essere correlato alla quantità di DNA target presente.<sup>6</sup>

Le sonde TaqMan® marcate con fluorofori all'estremità 5' e quencher all'estremità 3' sono utilizzate per rilevare il DNA dell'HSV-1, il DNA dell'HSV-2 e il DNA dell'SPC1. Il software del NeuMoDx™ System monitora il segnale fluorescente emesso dalle sonde TaqMan® alla fine di ogni ciclo di amplificazione. Quando l'amplificazione è completa, il software del NeuMoDx™ System analizza i dati e riporta un risultato finale: POSITIVE (Positivo)/NEGATIVE (Negativo)/INDETERMINATE (Indeterminato)/UNRESOLVED (Non risolto)/NO RESULT (Nessun risultato). Se il risultato è positivo e la concentrazione calcolata rientra nei limiti della quantificazione, il software del NeuMoDx™ System fornisce anche un valore quantitativo associato al campione oppure indica se la concentrazione calcolata è al di fuori dell'intervallo lineare.

### REAGENTI/MATERIALI DI CONSUMO

#### Materiali in dotazione

RIF	Contenuto	Test per unità	Test per confezione
202400	NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip Reagenti per PCR liofilizzati contenenti sonde e primer TaqMan® specifici per HSV-1, sonde e primer TaqMan® specifici per HSV-2, insieme a sonda e primer TaqMan® specifici per SPC1.	16	96

#### Reagenti e materiali di consumo necessari ma non in dotazione (disponibili separatamente da NeuMoDx)

RIF	Contenuto
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate Particelle paramagnetiche, enzima litico e controlli di elaborazione dei campioni essiccati.
800900	NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators Set monouso di calibratori essiccati alti e bassi HSV-1 e HSV-2 per stabilire la curva standard.
900901	NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls Set monouso di controlli essiccati positivi HSV-1 e HSV-2 e controlli negativi per stabilire la validità giornaliera del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Puntali Hamilton CO-RE (300 µL) con filtri
235905	Puntali Hamilton CO-RE (1000 µL) con filtri

Per i dettagli relativi ai reagenti e ai materiali di consumo, fare riferimento ai relativi fogli illustrativi.

#### Strumentazione necessaria

NeuMoDx™ 288 Molecular System (RIF 500100) o NeuMoDx™ 96 Molecular System (RIF 500200).  
Software del NeuMoDx™ System versione 1.9.2.6 o superiore.

### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- La NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip è destinata all'uso diagnostico in vitro solo con i NeuMoDx™ Systems.
- Prima di eseguire il test, leggere tutte le istruzioni riportate nel foglio illustrativo del kit.
- Non utilizzare i reagenti o i materiali di consumo dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun reagente se il sigillo di sicurezza è rotto o se la confezione risulta danneggiata all'arrivo.
- Non utilizzare i materiali di consumo o i reagenti se l'involucro protettivo risulta aperto o rotto all'arrivo.
- Non mescolare reagenti di amplificazione di altri kit in commercio.
- Non riutilizzare. Tenere tutte le NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips al riparo da luce e umidità nei rispettivi involucri di alluminio.
- Prima di poter generare i risultati dei test per i campioni clinici, deve essere disponibile una calibrazione del test valida, generata elaborando i calibratori alti e bassi dai NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators (RIF 800900).
- È necessario elaborare i NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls (RIF 900901) ogni 24 ore per tutta la fase di analisi con la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip.
- Il volume minimo di campione dipende dalle dimensioni della provetta, dal portaprovette e dal volume di campione, come di seguito definito. Un volume al di sotto del minimo specificato può generare un errore "Quantity Not Sufficient" (Quantità non sufficiente).
- L'uso di campioni conservati a temperature non corrette oppure oltre i tempi di stoccaggio specificati può produrre risultati non validi o errati.
- Evitare la contaminazione microbica e da desossiribonucleasi (DNasi) di tutti i reagenti e i materiali di consumo. Si consiglia l'uso di pipette di trasferimento monouso sterili prive di DNasi se si utilizzano provette per campioni secondarie. Utilizzare una nuova pipetta per ciascun campione.
- Per evitare la contaminazione, non manipolare né spezzare le NeuMoDx™ Cartridges dopo l'amplificazione. In nessun caso recuperare le NeuMoDx™ Cartridges dal contenitore dei materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx™ 288 Molecular System) o dal recipiente dei materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx™ 96 Molecular System). La NeuMoDx™ Cartridge è progettata per prevenire la contaminazione.
- Nei casi in cui il laboratorio esegua anche test PCR a provetta aperta, è necessario assicurarsi che la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, i materiali di consumo e i reagenti aggiuntivi necessari per l'analisi, i dispositivi di protezione individuale come guanti e camici da laboratorio e il NeuMoDx™ System non siano contaminati.
- Durante la manipolazione di reagenti e materiali di consumo NeuMoDx™, è necessario indossare guanti in nitrile, puliti e privi di polvere. Prestare attenzione a non toccare la superficie superiore della NeuMoDx™ Cartridge, la superficie del sigillo della NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip o della NeuMoDx™ Extraction Plate oppure la superficie superiore del NeuMoDx™ Lysis Buffer 1; la manipolazione dei materiali di consumo e dei reagenti deve essere effettuata toccando solo le superfici laterali.
- Per ciascuno dei reagenti (se pertinente) vengono fornite le schede di sicurezza (SDS, Safety Data Sheet) all'indirizzo [www.neumodx.com/client-resources](http://www.neumodx.com/client-resources).
- Le modifiche rispetto alla versione precedente del foglio illustrativo sono evidenziate da una barra verticale a margine del testo.
- Dopo avere eseguito il test, lavare bene le mani.
- Non pipettare con la bocca. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti.
- Trattare sempre i campioni come se fossero infettivi e attenendosi a procedure di laboratorio sicure, come quelle descritte in conformità allo standard OSHA sui patogeni a trasmissione ematica<sup>7</sup>. È necessario seguire le norme sul livello di biosicurezza 2<sup>8</sup> o altre pratiche di biosicurezza adeguate<sup>9,10</sup> per i materiali che contengono o che si sospetta contengano agenti infettivi.
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto in conformità alle normative nazionali, federali, provinciali, regionali e locali. Attenersi alle raccomandazioni fornite nella scheda di sicurezza (SDS).

### STOCCAGGIO, MANIPOLAZIONE E STABILITÀ DEL PRODOTTO

- Le NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips sono stabili nell'imballaggio primario a temperature comprese tra 15 e 30 °C fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta del prodotto.
- Una NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip caricata nel NeuMoDx™ System è stabile per 32 giorni; il software del NeuMoDx™ System richiederà la rimozione delle strisce reattive che sono state in uso a bordo del NeuMoDx™ System per più di 32 giorni e sarà necessario aprire nuove NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips (estraendo le strisce dall'involucro) da caricare sul NeuMoDx™ System. Non rimuovere il foglio di alluminio dalla striscia durante il caricamento sul supporto per strisce reattive.
- I calibratori e i controlli HSV 1/2 NeuMoDx™ non sono infettivi, ma devono essere smaltiti nei materiali di scarto a rischio biologico del laboratorio dopo l'uso, poiché contengono materiali target che, se non trattati correttamente, potrebbero provocare contaminazione.

### PRELIEVO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

1. Trattare tutti i campioni come se contenessero agenti potenzialmente infettivi.
2. Non congelare i campioni di sangue intero o plasma conservati in provette primarie.
3. Per preparare i campioni di plasma, è necessario raccogliere il sangue intero in provette sterili utilizzando EDTA come anticoagulante. Seguire le istruzioni fornite dal produttore delle provette per la raccolta dei campioni.

4. Il sangue intero raccolto nei dispositivi sopra elencati può essere conservato e/o trasportato per un massimo di 24 ore a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C prima della preparazione del plasma. La preparazione dei campioni deve essere eseguita attenendosi alle istruzioni del produttore.
5. Il plasma preparato può essere conservato sul NeuMoDx™ System per un massimo di 24 ore prima dell'elaborazione. Se è necessario un tempo di conservazione maggiore, si consiglia di mettere i campioni in frigorifero o di congelarli come aliquote secondarie.
6. I campioni di plasma preparato devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C per non più di 8 giorni prima dell'analisi e per un massimo di 24 ore a temperatura ambiente.
7. I campioni preparati possono essere conservati a < -20 °C per un massimo di 8 settimane prima dell'elaborazione; i campioni di plasma non devono essere sottoposti a più di 2 cicli di congelamento/scongelo prima dell'uso:
  - a. Se i campioni sono congelati, farli scongelare completamente a temperatura ambiente (15-30 °C) prima dell'analisi; miscelare con vortex per ottenere un campione uniformemente distribuito.
  - b. Una volta scongelati i campioni congelati, l'analisi deve essere eseguita entro 24 ore.
8. Se i campioni vengono spediti, devono essere imballati ed etichettati in conformità alle normative nazionali e/o internazionali applicabili.
9. Etichettare in modo chiaro i campioni e indicare che sono destinati all'analisi dell'HSV-1 e/o dell'HSV-2.
10. Procedere con la sezione *Preparazione del test*.

Il processo generale di implementazione del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay è riepilogato nella *Figura 1*.

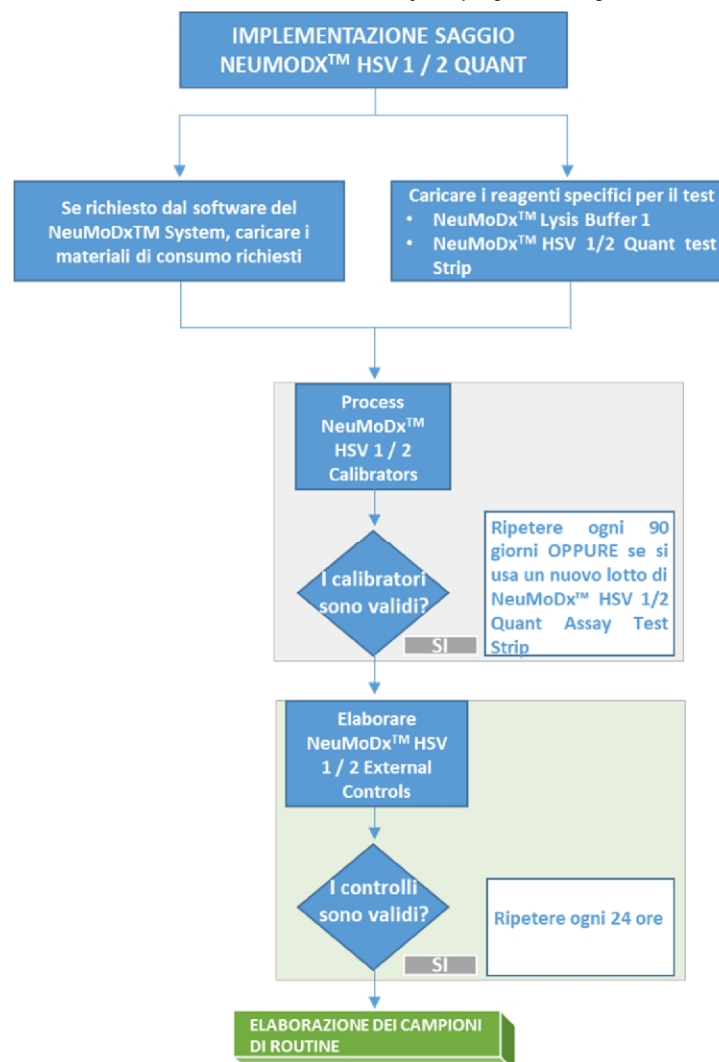


Figura 1: Flusso di lavoro di implementazione del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

### ISTRUZIONI PER L'USO

#### Preparazione del test

Per i campioni di plasma, il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay può essere eseguito direttamente dalle provette primarie per la raccolta di sangue o da aliquote di campione in provette secondarie.

1. Applicare un'etichetta con codice a barre su una provetta per campioni compatibile con il NeuMoDx™ System. La provetta primaria per la raccolta di sangue può essere etichettata e collocata direttamente nell'apposito portaprovette per campioni, dopo centrifugazione secondo le istruzioni del produttore.
2. Se l'analisi del campione di plasma viene eseguita nella provetta primaria per la raccolta del campione, collocare la provetta con codice a barre in un portaprovette per campioni e assicurarsi di rimuovere il tappo prima del caricamento sul NeuMoDx™ System. I volumi minimi *al di sopra* dello strato di gel/buffy coat sono definiti di seguito e saranno rispettati se i campioni sono raccolti ed elaborati secondo le istruzioni del produttore delle provette. Per i campioni raccolti in modo improprio, le prestazioni non sono garantite.
3. Per campioni di plasma in una provetta secondaria, trasferire un' aliquota di campione nella provetta per campioni con codice a barre compatibile con il NeuMoDx™ System in base ai volumi di seguito definiti:

Portaprovette per campioni	Dimensioni della provetta	Volume di campione minimo richiesto
Portaprovette per campioni da 32 provette	11-14 mm di diametro per 60-120 mm di altezza	750 µL
Portaprovette per campioni da 24 provette	14,5-18 mm di diametro per 60-120 mm di altezza	1100 µL
Portaprovette per campioni a volume ridotto	Provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 mL	650 µL

#### Funzionamento del NeuMoDx™ System

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento ai Manuali dell'operatore dei NeuMoDx™ 288 e 96 Molecular Systems (p/n 40600108 e 40600317).

1. Caricare l'ordine di test sul NeuMoDx™ System in funzione del tipo di provetta desiderato.
2. Tagliare gli involucri di alluminio delle NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips in corrispondenza del punto indicato dalle tacche laterali.
3. Togliere le strisce dagli involucri subito prima dell'uso.
4. Prima di utilizzarli, assicurarsi sempre che gli involucri siano ben sigillati e che contengano ancora la bustina di essiccante. Utilizzare solo involucri non danneggiati.
5. Smaltire gli involucri di alluminio e il relativo contenuto se il colore della bustina di essiccante passa da arancione a verde.
6. Inserire le NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips in uno o più NeuMoDx™ System Test Strip Carriers e usare il touchscreen per caricare tali supporti per strisce reattive nel NeuMoDx™ System.
7. Se richiesto dal software del NeuMoDx™ System, aggiungere i materiali di consumo necessari nei supporti dei materiali di consumo del NeuMoDx™ System e caricare i supporti nel NeuMoDx™ System utilizzando il touchscreen.
8. Se richiesto dal software del NeuMoDx™ System, sostituire il NeuMoDx™ Wash Reagent e il NeuMoDx™ Release Reagent, svuotare i rifiuti di adescamento, il contenitore dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 288 Molecular System), il recipiente dei puntali di scarto (solo NeuMoDx™ 96 Molecular System) o il recipiente dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx™ 96 Molecular System), secondo necessità.
9. Se richiesto dal software del NeuMoDx™ System, elaborare i calibratori (RIF 800900) e/o i controlli esterni (RIF 900901) secondo necessità. Per ulteriori informazioni sui calibratori e i controlli, consultare la sezione Elaborazione dei risultati.
10. Caricare la provetta o le provette per calibratori/controlli in un portaprovette standard da 32 provette e assicurarsi che da tutte le provette siano stati rimossi i tappi.
11. Collocare i portaprovette per campioni sul ripiano del caricatore automatico e utilizzare il touchscreen per caricare i portaprovette nel NeuMoDx™ System. In questo modo si avvierà l'elaborazione dei campioni caricati per il/i test identificato/i, a condizione che nel sistema sia presente un ordine di test valido.

### LIMITAZIONI

- La NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip può essere utilizzata solo sui NeuMoDx™ Systems.
- Le prestazioni della NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip sono state stabilite per campioni di plasma preparati da sangue intero raccolto con EDTA come anticoagulante. L'uso della NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip con altri tipi di campioni clinici non è stato valutato e le caratteristiche delle prestazioni del test per altri tipi di campioni non sono note.
- Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay non deve essere utilizzato con campioni di sangue umano eparinizzato.
- Poiché la rilevazione del DNA dell'HSV-1 e/o dell'HSV-2 dipende dal numero di organismi presenti nel campione, l'affidabilità dei risultati dipende dall'adeguatezza della raccolta, della manipolazione e della conservazione dei campioni.
- La raccolta, la manipolazione e la conservazione non corrette dei campioni, errori tecnici o scambi di provette per campioni possono provocare risultati errati. Inoltre, se il numero di particelle virali nel campione è al di sotto del limite di rilevazione del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, potrebbero verificarsi risultati falsi negativi.
- Il NeuMoDx™ System è destinato a essere utilizzato esclusivamente da personale addestrato all'uso del sistema.
- Se non vengono amplificati i target HSV-1, HSV-2 e SPC1, verrà riportato un risultato non valido (Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Non risolto)) e il test dovrà essere ripetuto.
- Se si verifica un errore di sistema prima del completamento dell'elaborazione del campione, verrà riportato "No Result" (Nessun risultato) e il test dovrà essere ripetuto.
- Se il risultato del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay è positivo, ma il valore di quantificazione è oltre i limiti di quantificazione, il NeuMoDx™ System segnalerà se il DNA dell'HSV-1 e/o dell'HSV-2 rilevato era al di sotto del limite di quantificazione inferiore (LLOQ, Lower Limit of Quantitation) o al di sopra del limite di quantificazione superiore (ULOQ, Upper Limit of Quantitation).
- Se il DNA dell'HSV-1 e/o dell'HSV-2 rilevato è al di sopra del limite ULOQ, è possibile ripetere il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay con un'aliquota diluita del campione originale. Si consiglia una diluizione di 1:100 o 1:1000 in plasma o diluente Basematrix 53 (Basematrix, SeraCare, Milford, MA) negativi per il DNA di HSV-1 e HSV-2. Il sistema calcolerà automaticamente la concentrazione del campione originale come segue: concentrazione del campione originale =  $\log_{10}$  (fattore di diluizione) + concentrazione segnalata del campione diluito, purché il fattore di diluizione sia stato selezionato correttamente nel software prima della ripetizione.
- La presenza occasionale di inibitori della PCR nel plasma può generare un errore di quantificazione del sistema; in tal caso, si consiglia di ripetere il test con lo stesso campione diluito in Basematrix a 1:10 o 1:100.
- Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di organismi vitali, ma è indice della potenziale presenza di DNA dell'HSV-1 e/o dell'HSV-2.
- Delezioni o mutazioni nelle regioni conservate target del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay possono influire sulla rilevazione o comportare un risultato errato quando si usa la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip.
- I risultati del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay dovranno essere utilizzati in aggiunta alle osservazioni cliniche e alle altre informazioni a disposizione del medico; il test non è destinato alla diagnosi dell'infezione.
- Per evitare la contaminazione, si consiglia l'adozione di buone pratiche di laboratorio, tra cui il cambio dei guanti tra una manipolazione dei campioni dei pazienti e quella successiva.

### ELABORAZIONE DEI RISULTATI

I risultati disponibili possono essere visualizzati o stampati dalla scheda "Results" (Risultati) della finestra Results sul touchscreen del NeuMoDx™ System. I risultati del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay vengono generati automaticamente dal software del NeuMoDx™ System utilizzando l'algoritmo decisionale e i parametri di elaborazione dei risultati specificati nel file di definizione del test NeuMoDx™ HSV 1/2 (HSV1/2 ADF versione 4.0.0). Il risultato del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay può essere riportato come Negative (Negativo), Positive (Positivo) con indicazione della concentrazione di HSV-1 e/o HSV-2, Positive above ULOQ (Positivo al di sopra del ULOQ), Positive below LLOQ (Positivo al di sotto del LLOQ), Indeterminate (IND) (Indeterminato), Unresolved (UNR) (Non risolto) o No Result (NR) (Nessun risultato), in funzione dello stato di amplificazione del target e del controllo di elaborazione dei campioni. I risultati vengono riportati sulla base dell'algoritmo di elaborazione dei risultati dell'ADF, riepilogato nella seguente *Tabella 1*.

I risultati della NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip devono essere interpretati nel contesto degli altri risultati clinici e di laboratorio.

Tabella 1: Riepilogo dell'interpretazione dei risultati del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Risultato	HSV-1/HSV-2	Controllo di elaborazione dei campioni (SPC1)	Interpretazione del risultato
Positive (Positivo) con indicazione della concentrazione	Amplified (Amplificato) $2,05 \leq [\text{HSV-1}] \leq 6,0 \log_{10}$ copie/mL	Amplified (Amplificato) o Not Amplified (Non amplificato)	DNA dell'HSV-1 rilevato entro il range di quantificazione
	Amplified (Amplificato) $1,78 \leq [\text{HSV-2}] \leq 6,0 \log_{10}$ copie/mL	Amplified (Amplificato) o Not Amplified (Non amplificato)	DNA dell'HSV-2 rilevato entro il range di quantificazione

Risultato	HSV-1/HSV-2	Controllo di elaborazione dei campioni (SPC1)	Interpretazione del risultato
Positive, above Upper Limit of Quantitation [ULoQ] (Positivo al di sopra del ULoQ)	Amplified (Amplificato) [HSV-1] > 6,0 log <sub>10</sub> copie/mL	Amplified (Amplificato) o Not Amplified (Non amplificato)	DNA dell'HSV-1 rilevato al di sopra del range di quantificazione
	Amplified (Amplificato) [HSV-2] > 6,0 log <sub>10</sub> copie/mL	Amplified (Amplificato) o Not Amplified (Non amplificato)	DNA dell'HSV-2 rilevato al di sopra del range di quantificazione
Positive, below Lower Limit of Quantitation [LLoQ] (Positivo al di sotto del LLoQ)	Amplified (Amplificato) [HSV-1] < 2,05 log <sub>10</sub> copie/mL	Amplified (Amplificato) o Not Amplified (Non amplificato)	DNA dell'HSV-1 rilevato al di sotto del range di quantificazione
	Amplified (Amplificato) [HSV-2] < 1,78 log <sub>10</sub> copie/mL	Amplified (Amplificato) o Not Amplified (Non amplificato)	DNA dell'HSV-2 rilevato al di sotto del range di quantificazione
Negative (Negativo)*	Not Amplified (Non amplificato)	Amplified (Amplificato)	DNA dell'HSV-1/HSV-2 non rilevato
Indeterminate (Indeterminato)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Non amplificato, Rilevato errore di sistema, Elaborazione campione completata)		Tutti i risultati target erano non validi; testare nuovamente il campione†
No Result (Nessun risultato)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Non amplificato, Rilevato errore di sistema, Elaborazione campione interrotta)		L'elaborazione del campione è stata interrotta; testare nuovamente il campione†
Unresolved (Non risolto)	Not Amplified, No System Error Detected (Non amplificato, Nessun errore di sistema rilevato)		Tutti i risultati target erano non validi; testare nuovamente il campione†

\*Come con altri test, risultati negativi non escludono l'infezione da HSV-1 e/o HSV-2.

†Il NeuMoDx™ System è dotato di funzionalità automatica Rerun/Repeat (Esegui nuovamente/Ripeti) che può essere selezionata dall'utente finale per garantire la rielaborazione automatica in caso di risultato IND/NR/UNR (Indeterminato/Nessun risultato/Non risolto) al fine di ridurre al minimo i ritardi nell'ottenimento dei risultati.

#### Calcolo del test

- Per i campioni che rientrano nel range di quantificazione del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, la concentrazione di DNA dell'HSV-1 e di DNA dell'HSV-2 nei campioni viene calcolata utilizzando le curve standard pertinenti memorizzate in combinazione con i coefficienti di calibrazione.
  - Viene calcolato un coefficiente di calibrazione in base ai risultati dei NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators elaborati per stabilire la validità della curva standard, per un determinato lotto di NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, su uno specifico NeuMoDx™ System, per ogni target.
  - Il coefficiente di calibrazione viene integrato nella determinazione finale della concentrazione di DNA dell'HSV-1 e di DNA dell'HSV-2.
- I risultati del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay sono espressi come Log<sub>10</sub> copie/mL e copie/mL.
- La quantificazione dei campioni non noti che ne risulta è tracciabile in base a EDX HSV-1 Verification Panel e HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics), entrambi quantificati mediante Droplet Digital PCR (ddPCR).

#### Calibrazione del test

Per quantificare il DNA dell'HSV-1 e/o il DNA dell'HSV-2 presente nei campioni, è necessaria una calibrazione valida basata sulla curva standard. Al fine di generare risultati validi, è necessario completare una calibrazione del test per l'HSV-1 e l'HSV-2 con i calibratori forniti da NeuMoDx™ Molecular, Inc.

#### Calibratori

- I NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators sono forniti in un kit (RIF 800900) e sono composti da pellet essiccato di DNA di HSV-1 e DNA di HSV-2 sintetici e tampone specifico.
- È necessario elaborare un set di calibratori HSV-1/HSV-2 con ogni nuovo lotto di NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips, se viene caricato un nuovo file di definizione del test HSV-1/HSV-2 nel NeuMoDx™ System, se il set di calibratori attuale ha superato il periodo di validità (attualmente impostato su 90 giorni) o se si modifica il software del NeuMoDx™ System.
- Il software del NeuMoDx™ System avvisa l'utente quando è necessario elaborare i calibratori; non è possibile utilizzare un nuovo lotto di strisce reattive per l'analisi finché i calibratori non sono stati correttamente elaborati.

4. Se è necessario elaborare un nuovo set di calibratori HSV-1/HSV-2, leggere tutte le istruzioni contenute nel foglio illustrativo dei NeuMoDx<sup>™</sup> HSV 1/2 Calibrators prima di eseguire il test.
5. La validità della calibrazione viene stabilita come segue:
  - a. È necessario generare due coefficienti di calibrazione, uno per l'HSV-1 e uno per l'HSV-2, elaborando un set di due calibratori per ogni target (alto e basso) per stabilire la validità di ciascuna curva.
  - b. Per generare risultati validi, almeno 2 replicati su 3 devono dare risultati che rientrino nei parametri predefiniti. Il target nominale del calibratore basso è 3,12 log<sub>10</sub> copie/mL e il target nominale del calibratore alto è 5,12 log<sub>10</sub> copie/mL per entrambi i set di calibratori HSV-1 e HSV-2.
  - c. Viene calcolato un coefficiente di calibrazione per tenere conto della variazione attesa fra i lotti di strisce reattive; tale coefficiente di calibrazione è utilizzato nella determinazione della concentrazione di HSV-1 e/o HSV-2 finale.
6. Se uno o entrambi i calibratori non superano il controllo di validità, ripetere l'elaborazione del calibratore o dei calibratori che non hanno superato il controllo utilizzando una nuova fiala. Se uno solo dei calibratori non supera il controllo di validità, è possibile ripetere l'elaborazione solo di tale calibratore, poiché il sistema non richiede all'utente di elaborare nuovamente entrambi i calibratori.
7. Se uno o più calibratori non superano il controllo di validità due volte consecutive, contattare il Servizio di assistenza tecnica di QIAGEN.

#### Controllo qualità

Le normative locali in genere indicano che il laboratorio è responsabile delle procedure di controllo che monitorano l'accuratezza e la precisione dell'intero processo analitico e che deve stabilire il numero, il tipo e la frequenza di analisi dei materiali di controllo utilizzando specifiche di prestazione verificate per un sistema di test approvato e non modificato.



### Controlli esterni

1. I controlli esterni per HSV-1 e HSV-2 (RIF 900901) sono forniti da NeuMoDx™. I controlli positivi contengono un pellet essiccato di DNA di HSV-1 e DNA di HSV-2 sintetici. Il controllo negativo è costituito da tampone.
2. I controlli esterni positivi e negativi devono essere elaborati una volta ogni 24 ore. Se non esiste un set di controlli esterni valido, prima di poter presentare i risultati del campione, il software del NeuMoDx™ System richiederà all'utente di elaborare tali controlli.
3. Se sono richiesti controlli esterni, preparare il controllo positivo e il controllo negativo come indicato nel foglio illustrativo degli HSV 1/2 External Controls prima di eseguire il test.
4. Utilizzando il touchscreen e un portaprovette per campioni collocato sul ripiano del caricatore automatico, caricare i controlli positivo e negativo nel NeuMoDx™ System. Il NeuMoDx™ System riconosce il codice a barre e avvia l'elaborazione delle provette di controlli esterni, salvo che i reagenti o i materiali di consumo richiesti per l'analisi non siano disponibili.
5. La validità dei controlli esterni sarà valutata dal NeuMoDx™ System in base al risultato atteso. Il controllo positivo deve fornire un risultato positivo per HSV-1 e HSV-2 e il controllo negativo deve fornire un risultato negativo per HSV-1 e HSV-2.
6. I risultati incongruenti per i controlli esterni devono essere gestiti come segue:
  - a. Un risultato del test positivo riportato per un campione di controllo negativo indica un problema di contaminazione del campione e per individuare la causa principale devono essere esaminate le procedure di controllo qualità del laboratorio. Accertarsi di utilizzare aree separate per la preparazione dei campioni, la manipolazione dei controlli e l'impostazione della PCR real-time. Per ulteriori suggerimenti in merito alla risoluzione dei problemi, fare riferimento al Manuale dell'operatore del *NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.
  - b. Un risultato del test negativo riportato per un campione di controllo positivo può indicare un problema correlato a un reagente o a uno strumento.
  - c. In entrambi i casi sopra illustrati o in caso di esito No Result (NR) (Nessun risultato), Unresolved (UNR) (Non risolto) o Indeterminate (IND) (Indeterminato), ripetere il controllo o i controlli non riusciti con una nuova fiala appena preparata del controllo o dei controlli che non hanno superato il test di validità.
  - d. Se i NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls positivi continuano a dare un risultato negativo, contattare il Servizio di assistenza tecnica di QIAGEN.
  - e. Se i NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls negativi continuano a dare un risultato positivo, cercare di eliminare tutte le fonti di potenziale contaminazione, anche sostituendo TUTTI i reagenti, prima di contattare il Servizio di assistenza tecnica di QIAGEN.
7. Se i controlli esterni non forniscono i risultati attesi, è necessario ripetere un set di controlli positivi e negativi. I campioni non verranno elaborati fino a quando il sistema non avrà elaborato un set di controlli esterni valido. Qualora i campioni siano in fase di elaborazione quando scadono i controlli esterni, il sistema richiederà che sia eseguito un set valido di controlli esterni. Se il set di controlli esterni non produce risultati validi, i risultati del campione non saranno riportati.

### Controlli (interni) di elaborazione dei campioni

Nella NeuMoDx™ Extraction Plate è integrato un controllo di elaborazione dei campioni esogeni (SPC1, Sample Process Control 1), che viene sottoposto all'intero processo di estrazione dell'acido nucleico e amplificazione mediante PCR real-time con ogni campione/controllo/calibratore. In ogni NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip sono inclusi i primer e la sonda specifici per l'SPC1 per consentire di rilevare la presenza dell'SPC1 insieme al DNA dell'HSV-1 e dell'HSV-2 target (se presenti) mediante PCR multiplex real-time. La rilevazione dell'amplificazione dell'SPC1 consente al software del NeuMoDx™ System di monitorare l'efficacia dei processi di estrazione e di amplificazione del DNA mediante PCR.

### Risultati non validi

Se un NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay eseguito sul NeuMoDx™ System non produce un risultato valido, sarà riportato come Indeterminate (IND) (Indeterminato), No Result (NR) (Nessun risultato) o Unresolved (UNR) (Non risolto) in funzione del tipo di errore riscontrato. Il test dovrà essere ripetuto al fine di ottenere un risultato valido.

Sarà riportato un risultato Indeterminate (IND) (Indeterminato) se viene rilevato un errore del NeuMoDx™ System durante l'elaborazione del campione. In caso di risultato IND, si consiglia di ripetere il test.

Sarà riportato un esito No Result (Nessun risultato) quando viene rilevato un errore del NeuMoDx™ System e viene interrotta l'elaborazione del campione. In caso di esito No Result (Nessun risultato), si consiglia di ripetere il test.

Sarà riportato un risultato UNR (Non risolto) se non viene rilevato alcun target e non vi è amplificazione del DNA dell'HSV-1, del DNA dell'HSV-2 o dell'SPC1, a indicare un potenziale errore correlato al reagente o la presenza di inibitori. In caso di risultato UNR, si consiglia innanzitutto di ripetere il test. Se anche il nuovo test non riesce, è possibile utilizzare un campione diluito per ridurre gli effetti dell'eventuale inibizione del campione (per ulteriori istruzioni, vedere la sezione relativa alle limitazioni).

Vedere il Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 Molecular System (P/N: 40600108) o il Manuale dell'operatore del NeuMoDx 96 Molecular System (P/N: 40600317) per un elenco dei codici di errore associabili ai risultati non validi.

### CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI<sup>11,12,16</sup>

#### Sensibilità analitica – Limite di rilevazione<sup>13</sup>

La sensibilità analitica del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay è stata caratterizzata testando una serie di diluizioni di EDX HSV-1 Verification Panel e HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics), in campioni di plasma HSV-1/HSV-2 negativi, al fine di stabilire il limite di rilevazione (LoD, Limit of Detection) sui NeuMoDx™ Systems. Il LoD è stato definito come il livello target più vicino, determinato in modo sperimentale, al di sopra della concentrazione determinata mediante analisi con modello Probit con un intervallo di confidenza (IC) al 95%. Lo studio è stato condotto nell'arco di 3 giorni su diversi sistemi con diversi lotti di reagenti NeuMoDx™. Ogni sistema ha elaborato 42 replicati a ogni livello di diluizione (campioni positivi) e 8 replicati per i campioni negativi al giorno. I tassi di rilevazione sono illustrati nelle *Tabelle 2 e 3*.

Tabella 2: Tassi di rilevazione positivi per la determinazione del LoD del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

HSV-1					HSV-2				
Concentrazione target [copie/mL]	Concentrazione target [log <sub>10</sub> copie/mL]	Numero di test validi	Numero di positivi	Tasso di rilevazione	Concentrazione target [copie/mL]	Concentrazione target [log <sub>10</sub> copie/mL]	Numero di test validi	Numero di positivi	Tasso di rilevazione
160	2,20	42	40	95,24%	100	2,00	42	41	97,62%
100	2,00	42	40	95,24%	60	1,78	41	39	95,12%
80	1,90	42	35	83,33%	40	1,60	42	40	95,24%
40	1,60	38	26	68,42%	20	1,30	42	27	64,29%
NEG	0,00	20	0	0%	NEG	0,00	24	0	0%

Il LoD per il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay è stato determinato mediante analisi con modello Probit come pari a 114 copie/mL (2,05 log<sub>10</sub> copie/mL) (intervallo di confidenza al 95%: 93,5-133,7 copie/mL) per l'HSV-1 e 56 copie/mL (1,75 log<sub>10</sub> copie/mL) (intervallo di confidenza al 95%: 44,7-66,2 copie/mL) per l'HSV-2.

La concentrazione LoD (114 copie/mL) dell'HSV-1 è stata confermata mediante analisi con metodo hit-rate su isolati provenienti da diverse aree geografiche: Asia, Europa, Africa e Nord America (Tabella 3).

Tabella 3: Analisi hit-rate su isolati di HSV-1 da diverse aree geografiche per la conferma del limite di rilevazione inferiore.  
Livello di concentrazione testato: 114 copie/mL.

Area geografica isolato	Test validi	Campioni rilevati	Tasso di rilevazione
Nord America	24	24	100
Europa	24	24	100
Asia	24	24	100
Africa	24	24	100

**Sensibilità analitica – Limite di quantificazione inferiore (LLOQ) e Limite di quantificazione superiore (ULOQ)<sup>13</sup>**

Il limite di quantificazione inferiore (LLOQ) e il limite di quantificazione superiore (ULOQ) sono definiti come il livello target più basso e il livello target più alto ai quali si raggiunge una rilevazione > 95% E un TAE ≤ 1,0. Per determinare il valore di LLOQ e ULOQ, è stato calcolato l'errore analitico totale (TAE, Total Analytical Error) per ciascuno dei livelli target di HSV-1 e HSV-2 per i quali è stata riportata una rilevazione > 95% nello studio del limite di rilevazione. Il TAE è definito come segue:

$$\text{TAE} = |\text{Bias}| + 2 * \text{SD} \text{ [Regole statistiche di Westgard]}$$

Il bias è il valore assoluto della differenza tra la media della concentrazione calcolata e la concentrazione attesa. DS è la deviazione standard del valore quantificato del campione.

I risultati compilati per i 5 livelli di campioni di plasma HSV-1/HSV-2 usati nello studio del LLOQ/ULOQ sono mostrati nelle Tabelle 4 e 5. Sulla base di questo set di dati e del LoD precedentemente determinato, sono stati determinati valori di LLOQ e ULOQ pari a 114 copie/mL (2,05 log<sub>10</sub> copie/mL) e 1,26x10<sup>6</sup> copie/mL (qui approssimato a 6 log<sub>10</sub> copie/mL) per l'HSV-1 e pari a 60 copie/mL (1,78 log<sub>10</sub> copie/mL) e 1,19x10<sup>6</sup> copie/mL (qui approssimato a 6 log<sub>10</sub> copie/mL) per l'HSV-2.

Tabella 4: NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; ULOQ e LLOQ per HSV-1, con bias e TAE

Conc. target [copie/mL]	Conc. target [log <sub>10</sub> copie/mL]	Conc. media [log <sub>10</sub> copie/mL]	Rilevazione (%)	DS	Bias	TAE
1,26x10 <sup>6</sup>	6,10	6,10	100	0,22	0,10	0,54
160	2,20	2,46	95,24	0,26	0,25	0,78
100	2,00	2,37	95,24	0,31	0,37	0,98
80	1,90	2,33	83,33	0,29	0,42	1,01
40	1,60	2,25	68,42	0,38	0,65	1,41

Tabella 5: NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; ULoQ e LLoQ per HSV-2, con bias e TAE

Conc. target [copie/mL]	Conc. target [log <sub>10</sub> copie/mL]	Conc. media [log <sub>10</sub> copie/mL]	Rilevazione (%)	DS	Bias	TAE
1,19x10 <sup>6</sup>	6,08	5,95	100	0,07	0,13	0,27
100	2,00	2,29	97,62%	0,20	0,29	0,69
60	1,78	2,21	95,12%	0,21	0,43	0,84
40	1,60	2,21	95,24%	0,21	0,61	1,02
20	1,30	2,00	64,29%	0,27	0,69	1,24

In base ai risultati di questi studi, il valore di LLoQ del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay determinato è pari a 114 copie/mL (2,05 log<sub>10</sub> copie/mL) per l'HSV-1 e pari a 60 copie/mL (1,78 log<sub>10</sub> copie/mL) per l'HSV-2. Il valore di ULoQ per tutti i tipi di campione è pari a 1,26x10<sup>6</sup> copie/mL (6 log<sub>10</sub> copie/mL) per l'HSV-1 e pari a 1,19x10<sup>6</sup> copie/mL (6 log<sub>10</sub> copie/mL) per l'HSV-2.

#### Linearità<sup>14</sup>

La linearità della NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip è stata stabilita nel plasma preparando una serie di diluizioni utilizzando EDX HSV-1 Verification Panel e HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics). Sono state create otto (8) diluizioni seriali di pannelli di HSV-1/HSV-2, preparati in plasma umano HSV-1/HSV-2 negativo, coprendo un range di concentrazione di 6-2 log<sub>10</sub> copie/mL.

Le concentrazioni del test dell'HSV-1/HSV-2 riportate dal NeuMoDx™ System rispetto ai valori attesi sono presentate nelle Figure 2 e 3.

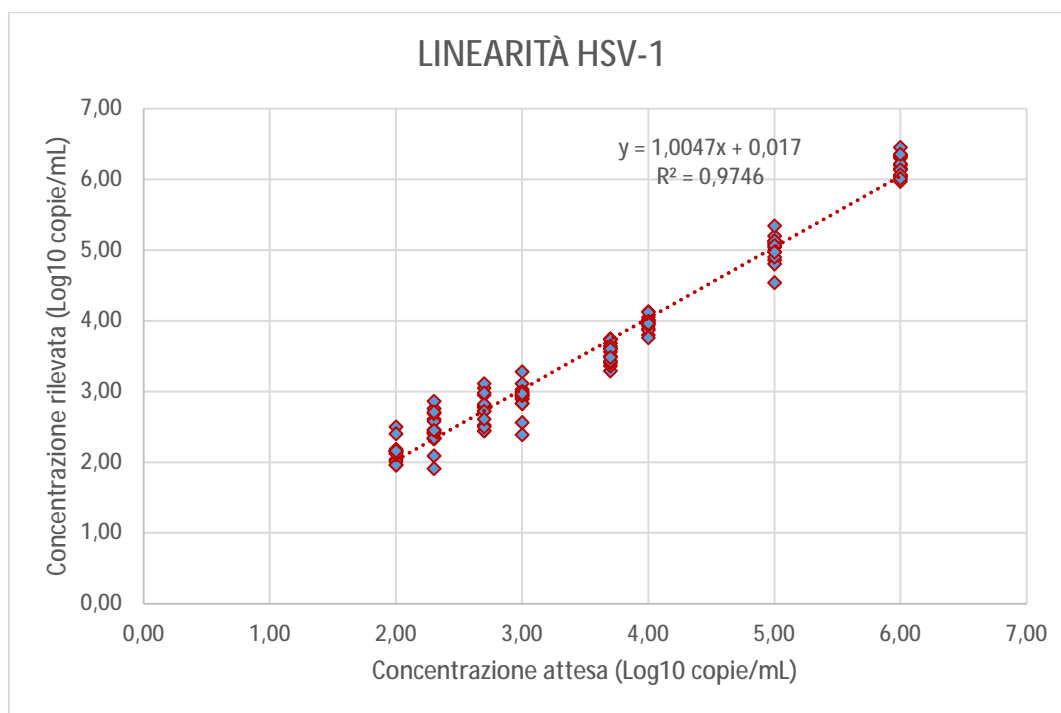


Figura 2: Linearità del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay per l'HSV-1

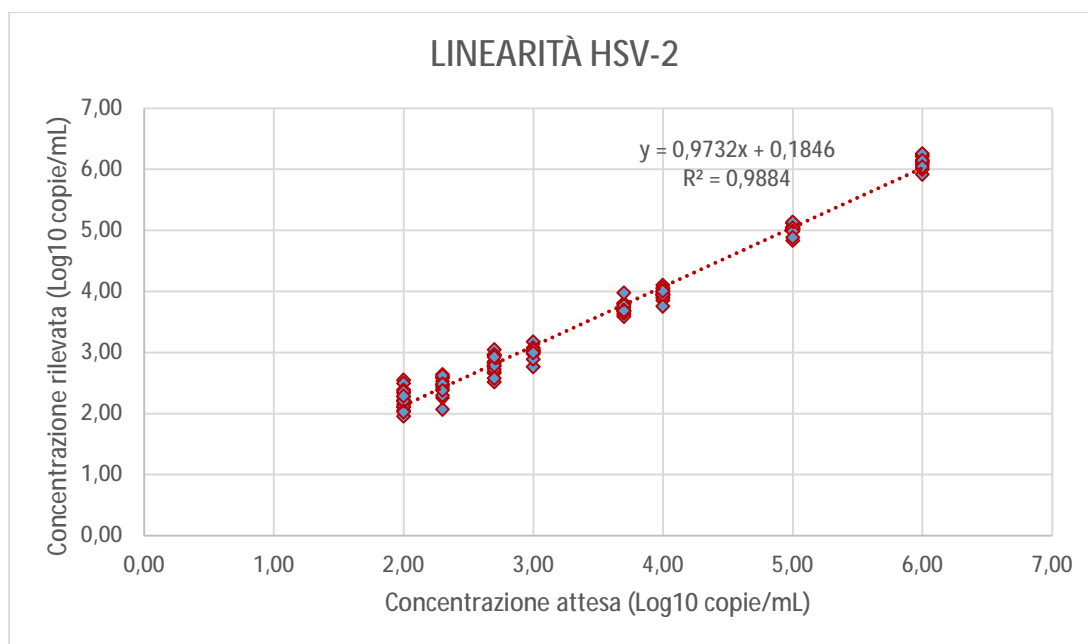


Figura 3: Linearità del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay per l'HSV-2

### Specificità analitica – Reattività crociata<sup>11, 12</sup>

La specificità analitica è stata dimostrata sottoponendo a screening 22 organismi comunemente presenti in campioni di plasma, nonché specie filogeneticamente simili all'HSV-1 e all'HSV-2 per reattività crociata. Gli organismi sono stati preparati in pool di 5/6 organismi e testati a concentrazione elevata. Gli organismi testati sono mostrati nella *Tabella 6*. Non è stata osservata alcuna reattività crociata con nessuno degli organismi testati, a conferma della specificità analitica del 100% del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Tabella 6: Patogeni usati per dimostrare la specificità analitica

Organismi non target					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1	Virus dell'epatite B	Adenovirus di tipo 5	Virus Ebstein-Barr	Virus varicella-zoster	Enterovirus 68
Virus BK	Herpesvirus umano di tipo 6	Herpesvirus umano di tipo 8	Citomegalovirus	HHV-7	HTVL-1
HTVL-2	Virus JC	SV40	Virus dell'immunodeficienza umana di tipo 2		

### Specificità analitica – Sostanze interferenti, organismi commensali<sup>11, 12</sup>

Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay è stato valutato in termini di interferenza in presenza di organismi non target utilizzando gli stessi pool di organismi preparati per testare la reattività crociata indicati nella precedente *Tabella 7*. Il plasma HSV-1/HSV-2 negativo è stato addizionato con gli organismi in pool di 4-7 ed è stato addizionato anche con il target HSV-1/HSV-2 a una concentrazione di 2,47 log<sub>10</sub> copie/mL (300 copie/mL). Non sono state osservate interferenze significative in presenza di questi organismi commensali, come indicato dalla deviazione minima della quantificazione dai campioni di controllo che non contenevano agenti interferenti.

### Specificità analitica – Sostanze interferenti, sostanze endogene ed esogene<sup>11, 12</sup>

Il NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay è stato valutato in presenza di sostanze interferenti esogene ed endogene tipiche rilevate in campioni clinici di plasma con HSV-1/HSV-2. Questi includevano livelli elevati anomali di componenti del sangue, nonché comuni farmaci antivirali, classificati nella *Tabella 8*. Ciascuna sostanza è stata aggiunta a Basematrix 53 HSV-1/HSV-2 negativo sottoposto a screening addizionato con 2,47 log<sub>10</sub> copie/mL (300 copie/mL) di HSV-1/HSV-2 e i campioni sono stati analizzati per valutare l'interferenza.

La concentrazione media e il bias di tutte le sostanze testate rispetto ai campioni di controllo addizionati con lo stesso livello di HSV-1/HSV-2 sono riportati nella *Tabella 9*. Nessuna delle sostanze esogene ed endogene ha influito sulla specificità del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Tabella 7: Test di interferenza - Agenti esogeni (classificazioni dei farmaci)

Pool	Nome del farmaco	Classificazione
Pool 1	Valganciclovir	ANTIVIRALE
	Prednisone	IMMUNOSOPPRESSORE
	Cidofovir	ANTIVIRALE
	Cefotaxima	ANTIBIOTICO
	Micofenolato mofetile	IMMUNOSOPPRESSORE
Pool 2	Vancomicina	ANTIBIOTICO
	Tacrolimus	IMMUNOSOPPRESSORE
	Famotidina	ANTAGONISTA DELL'ISTAMINA
	Valaciclovir	ANTIVIRALE
	Leflunomide	IMMUNOSOPPRESSORE

Tabella 8: Test di interferenza - Agenti esogeni ed endogeni

Endogeni (plasma)	HSV-1		HSV-2	
	Conc. media	Bias	Conc. media	Bias
	log <sub>10</sub> copie/mL	log <sub>10</sub> copie/mL	log <sub>10</sub> copie/mL	log <sub>10</sub> copie/mL
Trigliceridi (500 mg/dL)	3,04	-0,19	2,51	0,07
Bilirubina coniugata (0,25 g/L)	3,18	-0,18	2,72	0,15
Bilirubina non coniugata (0,25 g/L)	3,62	-0,27	2,53	0,24
Albumina (58,7 g/L)	2,88	-0,14	1,99	0,01
Emoglobina (2,9 g/L)	2,8	-0,07	2,69	-0,01
Esogeni (farmaci)	Conc. media	Bias	Conc. media	Bias
	log <sub>10</sub> copie/mL	log <sub>10</sub> copie/mL	log <sub>10</sub> copie/mL	log <sub>10</sub> copie/mL
Pool 1: valganciclovir, prednisone, cidofovir, cefotaxima, micofenolato mofetile	2,16	0,33	2,18	0,35
Pool 2: vancomicina, tacrolimus, famotidina, valaciclovir, leflunomide	2,53	0,32	2,44	0,56

#### Ripetibilità e precisione intra-laboratorio<sup>15</sup>

La precisione della NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip è stata determinata testando 2 replicati di un pannello di 3 campioni di HSV-1/HSV-2 preparati con plasmide di HSV-1 o HSV-2 due volte al giorno, utilizzando un NeuMoDx™ 96 System per 20 giorni. Sono state caratterizzate le precisioni intra-sessione e intra-giornata ed è stata determinata la deviazione standard complessiva pari a  $\leq 0,30 \log_{10}$  copie/mL. È stata dimostrata una precisione eccellente tra giorni e sessioni, come illustrato nella *Tabella 9*. La precisione tra operatori non è stata caratterizzata, poiché l'operatore non svolge un ruolo significativo nell'elaborazione dei campioni con il NeuMoDx™ System.

Tabella 9: Precisione intra-laboratorio – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay sul NeuMoDx™ 96 Molecular System

Campione	DS ripetibilità (log10 copie/mL)	DS tra sessioni (log10 copie/mL)	DS intra-giornata (log10 copie/mL)	DS tra giorni (log10 copie/mL)	DS complessiva (intra-laboratorio) (log10 copie/mL)
<b>HSV-1</b>					
5,5 log <sub>10</sub> copie/mL	0,18	0,00	0,18	0,10	0,20
4,5 log <sub>10</sub> copie/mL	0,16	0,10	0,19	0,00	0,19
3,0 log <sub>10</sub> copie/mL	0,19	0,09	0,21	0,10	0,23
<b>HSV-2</b>					
5,7 log <sub>10</sub> copie/mL	0,14	0,05	0,15	0,07	0,16
4,7 log <sub>10</sub> copie/mL	0,11	0,00	0,11	0,07	0,13
3,1 log <sub>10</sub> copie/mL	0,16	0,13	0,20	0,00	0,20

### Riproducibilità da lotto a lotto<sup>15</sup>

La riproducibilità da lotto a lotto della NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip è stata determinata utilizzando tre lotti diversi di NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips. È stato utilizzato un pannello di 4 campioni di HSV-1 e HSV-2 preparati con EDX HSV-1 Verification Panel o HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) per valutare le prestazioni su un NeuMoDx™ 96 Molecular System in 5 sessioni separate. È stata analizzata la variazione intra-lotto e tra lotti e i risultati, espressi come deviazione standard tra lotti, sono presentati nella *Tabella 10*. La deviazione standard massima più elevata era di 0,26 log<sub>10</sub> copie/mL. Sono state dimostrate prestazioni equivalenti tra i lotti, poiché la deviazione standard di tutti i componenti del pannello rientrava nella specifica di tolleranza (DS riproducibilità ≤ 0,3 log<sub>10</sub> copie/mL).

Tabella 10: Riproducibilità da lotto a lotto – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Campione	DS ripetibilità (Log10 copie/mL)	DS tra giorni (Log10 copie/mL)	DS intra-lotto (Log10 copie/mL)	DS tra lotti (Log10 copie/mL)	DS riproducibilità (Log10 copie/mL)
<b>HSV-1</b>					
1,26 x10 <sup>5</sup> copie/mL	0,12	0,22	0,25	0,00	0,25
1,26 x10 <sup>4</sup> copie/mL	0,16	0,19	0,25	0,00	0,25
300 copie/mL	0,18	0,17	0,25	0,00	0,25
<b>HSV-2</b>					
1,26 x10 <sup>5</sup> copie/mL	0,13	0,12	0,17	0,00	0,18
1,26 x10 <sup>4</sup> copie/mL	0,77	0,10	0,13	0,00	0,13
300 copie/mL	0,21	0,12	0,24	0,00	0,24

### Riproducibilità da strumento a strumento<sup>15</sup>

La riproducibilità da strumento a strumento della NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip è stata determinata utilizzando tre sistemi diversi (un NeuMoDx™ 288 Molecular System e due NeuMoDx™ 96 Molecular Systems). È stato utilizzato un pannello di 4 campioni di HSV-1/HSV-2 preparati con EDX HSV-1 Verification Panel o HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) per valutare le prestazioni. L'analisi è stata eseguita sui sistemi per 5 giorni. È stata caratterizzata la variazione intra-giornata e tra sistemi ed è stata determinata la deviazione standard complessiva pari a ≤ 0,30 log<sub>10</sub> copie/mL. Sono state dimostrate prestazioni equivalenti tra i sistemi, poiché la DS nella quantificazione di tutti i componenti del pannello rientrava nella specifica di tolleranza (Tabella 11).

Tabella 11: Riproducibilità da strumento a strumento – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip

Campione	DS ripetibilità (Log10 copie/mL)	DS tra giorni (Log10 copie/mL)	DS intra-sistema (Log10 copie/mL)	DS tra sistemi (Log10 copie/mL)	DS riproducibilità (Log10 copie/mL)
<b>HSV-1</b>					
1,26 x10 <sup>5</sup> copie/mL	0,25	0,04	0,26	0,13	0,29
1,26 x10 <sup>4</sup> copie/mL	0,26	0,08	0,28	0,07	0,28
300 copie/mL	0,19	0,08	0,21	0,08	0,23
<b>HSV-2</b>					
1,26 x10 <sup>5</sup> copie/mL	0,15	0,16	0,22	0,00	0,22
1,26 x10 <sup>4</sup> copie/mL	0,14	0,18	0,23	0,08	0,24
300 copie/mL	0,14	0,20	0,25	0,00	0,25

### BIBLIOGRAFIA

1. Rifai, N., Horvath, A.R., Wittwer, C.T., Tietz, N.W. (Eds.), 2018. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, Sixth edition. ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
2. Lee, D.H., Zuckerman, R.A., AST Infectious Diseases Community of Practice, 2019. Herpes simplex virus infections in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. Clin Transplant 33, e13526. <https://doi.org/10.1111/ctr.13526>
3. Reid GE, Lynch JP 3rd, Weigt S, Sayah D, Belperio JA, Grim SA, Clark NM. Herpesvirus Respiratory Infections in Immunocompromised Patients: Epidemiology, Management, and Outcomes. Semin Respir Crit Care Med. 2016 Aug;37(4):603-30. doi: 10.1055/s-0036-1584793. Epub 2016 Aug 3. PMID: 27486740; PMCID: PMC7171758.
4. Fernandez-Nieto D, Jimenez-Cauhe J, Ortega-Quijano D, Burgos-Blasco P, Pindado-Ortega C, Bea-Ardebol S. A case of atypical disseminated herpes simplex virus 1 with hepatitis in a liver transplant recipient: the need for dermatologic evaluation. Dermatol Online J. 2020 Feb 15;26(2):13030/qt3k90n5s9. PMID: 32239894.
5. Rostamzadeh Khameneh Z, Sepehrvand N, Taghizadeh-Afshari A, Motazakker M, Ghafari A, Masudi S. Seroprevalence of herpes simplex virus-2 in kidney transplant recipients: a single-center experience. Iran J Kidney Dis. 2010 Apr;4(2):158-61. PMID: 20404429.
6. Navarro E, Serrano-Heras G et al. 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. Clin Chim Acta.15;439:231-50. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens, <https://www.osha.gov/lawsregs/regulations/standardnumber/1910/1910.1030>
7. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
8. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed.Geneva: World Health Organization, 2004.
9. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
10. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—Second Edition CLSI Document MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020
11. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
12. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
13. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
14. CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline – First Edition. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2003.
15. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
16. CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

### MARCHI COMMERCIALI















NeuMoDx™ è un marchio commerciale di NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® è un marchio commerciale registrato di Roche Molecular Systems, Inc.

Seracare® è un marchio commerciale registrato di Seracare Life Sciences, Inc.

Tutti gli altri nomi di prodotto, i marchi commerciali e i marchi commerciali registrati eventualmente menzionati in questo documento sono di proprietà dei rispettivi titolari.

### SIMBOLI

SIMBOLO	SIGNIFICATO
	Solo su prescrizione medica
	Produttore
	Distributore
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Numero di catalogo
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione, consultare i documenti di accompagnamento
	Limiti di temperatura
	Non bagnare
	Non riutilizzare
	Non esporre alla luce
	Contenuto sufficiente per $<n>$ test
	Data di scadenza



SENTINEL CH. S.p.A.  
Via Robert Koch, 2  
20152 Milano, Italia

[www.sentinel diagnostics.com](http://www.sentinel diagnostics.com)



NeuMoDx Molecular, Inc.  
1250 Eisenhower Place  
Ann Arbor, MI 48108, USA

+1 888 301 NMDX (6639)  
Servizio di assistenza tecnica:  
[support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com)  
Rapporti di sorveglianza: [support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com)

Brevetto: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)