



202500 NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

FORSIGTIG: Kun til eksport fra USA



Til *in vitro*-diagnostisk brug med NeuMoDx™ 288 og NeuMoDx™ 96 Molecular Systems



Denne indlægsseddel skal læses omhyggeligt, inden produktet anvendes. Instruktionerne i indlægssedlen skal følges.

Analyseresultaternes pålidelighed kan ikke garanteres, hvis der afviges fra instruktionerne i denne indlægsseddel.

Der er flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx™ 288 Molecular System; P/N 40600108

Der er flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx™ 96 Molecular System; P/N 40600317



TILSIGTET ANVENDELSE

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay er en automatiseret *in vitro*-nukleinsyreampifikationstest til kvantificering og differentiering af Human betaherpesvirus 6A (HHV-6A) DNA og/eller Human betaherpesvirus 6B (HHV-6B) DNA i EDTA-plasma fra patienter med immunsupprimerede transplantationer^{1,2}.

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay foretaget i NeuMoDx™ 288 Molecular System og NeuMoDx™ 96 Molecular System indeholder automatiseret DNA-ekstraktion for at isolere målnukleinsyren fra prøven og realtids-PCR for at målrette to højt bevarede regioner i HHV-6A- og HHV-6B-genomer.

Analysen er beregnet som et hjælpemiddel til monitorering af HHV-6A og/eller HHV-6B DNA-niveauer i EDTA-plasma. Denne analyse er beregnet til anvendelse i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører for fremskreden sygdom med henblik på klinisk behandling og monitorering af HHV-6A- og/eller HHV-6B-infektioner.

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay er ikke beregnet til brug som en screeningstest for tilstedeværelsen af HHV-6A og/eller HHV-6B DNA i blod eller blodprodukter.

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay er beregnet til at blive brugt af uddannet klinisk laboratoriepersonale, der har fået særlige anvisninger og er blevet oplært i teknikkerne i forbindelse med realtids-PCR og *in vitro*-diagnostiske procedurer og/eller NeuMoDx™ Molecular Systems. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay er ikke beregnet til selvtest eller til brug på behandlingssteder.

OVERSIGT OG FORKLARING

Humant fuldblod opsamlet i sterile blodprøvetagningsrør, der indeholder EDTA som antikoagulationsmiddel eller i rør til klargøring af plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT), kan bruges til klargøring af plasma. For at påbegynde testningen indsættes plasma i et primært eller sekundært prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx™ System, i NeuMoDx™ System ved hjælp af en dertil beregnet prøverørholder for at påbegynde automatisk forarbejdning.

En 550 µL alikvot af plasmaprøven blandes med NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, og NeuMoDx™ System udfører automatisk alle de trin, der er nødvendige for at ekstrahere målnukleinsyrerne. Klargør det isolerede DNA til realtids-PCR-ampifikation, og amplificer og påvis ampifikationsprodukterne, hvis de er til stede. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay indeholder en DNA-prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) til hjælp til monitorering for forekomst af potentielle inhibitoriske stoffer samt NeuMoDx™ System- eller reagensfejl, der kan opstå under ekstraktions- og ampifikationsprocessen.

Human Herpes Virus 6 (HHV-6) er en del af underfamilien Betaherpesvirus og omfatter to forskellige arter, HHV-6A og HHV-6B². Det er en DNA-virus, som har tropisme for centralnervesystemets væv, mandler, spytkirtler, nyrer, lever, lymfeknuder, endotelceller og monocytter/makrofager⁴. Det primære syndrom i forbindelse med HHV-6-infektion er exanthema subitum (roseola eller sjette sygdom)^{1,2,3,4}. Dette er næsten udelukkende en børnesygdom og tegner sig for 10 % til 30 % af alle skadestuebesøg for børn under 2 år¹. Som alle herpesvira kan HHV-6 etablere livslang latens efter den første infektion, blandt andet i hæmatopoietiske stamceller og kimplanter, og derved muliggøre såvel horisontal som vertikal transmission². Dette fænomen er beskrevet hos 0,2 til 1 % af den generelle befolkning⁴. I den immunsupprimerede vært kan latent virus reaktiveres og forårsage alvorlig sygdom, herunder lungebetændelse, CNS-sygdom og forsinket knoglemarvsimplantation eller Graft-versus-host sygdom (Graft versus Host Disease, GvHD). Hyppigheden af HHV-6-reakivering varierer fra ca. 0 % til 80 % (gns. 30 % til 50 %) hos patienter transplanteret med solide organer (SOT) eller knoglemarv (BMT), med en lille præference for BMT¹. HHV-6A-reakivering identificeres sjældent efter transplantation i modsætning til HHV-6B. HHV-6B-reakivering påvirker cirka 40 % af forsøgspersonerne inden for de første få måneder. Det er den hyppigste infektiøse årsag til hjernebetændelse efter HCT (1 % af tilfældene). Patienter, der udvikler HHV-6B encephalitis, har typisk samtidig påvisning af HHV-6B i plasmat med viral belastning ≥ 10.000 kopier/mL³.

PROCEDUREPRINCIPPER

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay på NeuMoDx™ System anvender NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators, NeuMoDx™ HHV-6 External Controls, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 og NeuMoDx™-universalreagenser til analysen. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay kombinerer automatiseret DNA-ekstraktion, ampifikation og påvisning med realtids-PCR. Plasmaprøver i primære eller sekundære prøverør, der er kompatible med NeuMoDx™ System, anbringes i en prøverørholder, som derefter sættes i NeuMoDx™ System til behandling. Der kræves ingen yderligere indblanding fra operatøren.

NeuMoDx™ Systems anvender en kombination af varme, lytiske enzymer og ekstraktionsreagenser til automatisk at udføre cellelysis, DNA-ekstraktion og fjernelse af hæmmere. De frigrivne nukleinsyrer fanges af magnetiske mikrosfærer. Mikrosfærerne sammen med de bundne nukleinsyrer isættes i NeuMoDx™ Cartridge, hvor de ubundne/ikke-DNA-komponenter vaskes yderligere væk med NeuMoDx™ Wash Reagent, og det bundne DNA elueres med NeuMoDx™ Release Reagent. NeuMoDx™ Systems anvender derefter det eluerede DNA til at rehydrere SENTINEL CH. S.p.A.-proprietære frysetørrede ampifikationsreagenser, der indeholder alle de nødvendige elementer til PCR-ampifikation af de HHV-6-specifikke mål og SPC1-mål. Efter rekonstitution af de frysetørrede PCR-reagenser dispenserer NeuMoDx™ System den forberedte PCR-klare blanding i en NeuMoDx™ Cartridge. Ampifikation og påvisning af kontrollen og mål-DNA-sekvenserne (hvis disse findes) sker i PCR-kammeret i NeuMoDx™ Cartridge. NeuMoDx™ Cartridge er også designet til at indeholde ampikonet efter realtids-PCR og i bund og grund eliminere risikoen for kontamination efter ampifikation.

De genomiske mål for NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip er U31- og U67-gener af HHV-6A- og HHV-6B-virale genomer. Disse amplificerede mål påvises i realtid med hydrolyseprobekemi (almindeligvis omtalt som TaqMan®-kemi) ved hjælp af fluorogene oligonukleotidprobemolekyler, der er specifikke for amplikonerne for deres respektive mål. TaqMan®-prober består af en fluorofor, der er kovalent sat på 5'-enden af oligonukleotidproben, og en quencher i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluoroforen og quencheren i nærheden af hinanden, hvilket resulterer i, at quenchermolekylet quencher den fluorescens, der udsendes af fluoroforen via FRET (Förster Resonance Energy Transfer). TaqMan®-prober er designet således, at de afhænder inden for en DNA-region, der er amplificeret af et specifikt sæt primere. Efterhånden som Taq DNA-polymerasen forlænger primeren og syntetiserer den nye streng, nedbryder Taq DNA-polymerasens 5' til 3'-eksonukleaseaktivitet den probe, der har afhæret til skabelonen. Nedbrydning af proben frigiver fluoroforen og bryder den tætte nærhed til quencheren, hvorved quenchingeffekten, der skyldes FRET, ophæves og tillader påvisning af fluorescens fra fluoroforen. Det resulterende fluorescerende signal, der registreres i den kvantitative PCR-termocycler i NeuMoDx™ System, er direkte proportional med den frigivne fluorofor og kan korreleres til mængden af mål-DNA, der er til stede⁵.

TaqMan®-prober mærket med fluoroforer ved 5'-enden, og quencherer ved 3'-enden, anvendes til at påvise HHV-6A DNA, HHV-6B DNA og SPC1 DNA. NeuMoDx™ System-softwaren monitorerer fluorescenssignalet, der udsendes af TaqMan®-proberne ved slutningen af hver amplifikationscyklus. Når amplifikationen er færdig, analyserer NeuMoDx™ System-softwaren dataene og rapporterer et resultat (POSITIVE (positivt)/NEGATIVE (negativt)/INDETERMINATE (ubestemt/ubestemt)/UNRESOLVED (uafklaret)/NO RESULT (intet resultat)). Hvis et resultat er positivt, og den beregnede koncentration er inden for kvantiteringsgrænserne, viser NeuMoDx™ System-softwaren også en kvantitativ værdi, der er forbundet med prøven, eller rapporterer, hvis den beregnede koncentration er uden for det lineære område.

REAGENSER/FORBRUGSVARER

Medfølgende materiale

REF	Indhold	Tests pr. enhed	Tests pr. pakke
202500	NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip <i>Frysetørrede PCR-reagenser med HHV-6A-specifikke TaqMan®-prober og -primere, HHV-6B-specifikke TaqMan®-prober og -primere samt SPC1-specifikke TaqMan®-prober og -primere.</i>	16	96

Nødvendige reagenser og forbrugsvarer, der ikke medfølger (kan fås separat hos NeuMoDx)

REF	Indhold
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Tørrede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveproceskontroller.</i>
801000	NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators <i>Sæt med HHV-6A- og HHV-6B-kalibratorer til engangsbrug til fastlæggelse af standardkurver.</i>
901000	NeuMoDx™ HHV-6 External Controls <i>Sæt med HHV-6A- og HHV-6B-positivt tørrede kontroller og negative kontroller til engangsbrug til fastlæggelse af den daglige gyldighed af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Hamilton CO-RE-spids (300 µl) med filtre
235905	Hamilton CO-RE-spids (1000 µl) med filtre

Se den relaterede indlægsseddel for at få oplysninger om reagenser og forbrugsvarer

Nødvendige instrumenter

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) eller **NeuMoDx™ 96 Molecular System** (REF 500200).
NeuMoDx System Software version 1.9.2.6 eller højere.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip er kun til in vitro-diagnostisk brug med NeuMoDx™ Systems.
- Læs alle instruktionerne i indlægssedlen, inden du udfører testen.
- Brug ikke reagenserne eller forbrugsvarerne efter den angivne udløbsdato.
- Brug ikke reagenserne, hvis sikkerhedsforseglingen er brudt, eller hvis emballagen er beskadiget ved modtagelsen.
- Anvend ikke forbrugsvarerne eller reagenserne, hvis den beskyttende pose er åben eller brudt ved modtagelsen.
- Undlad at iblande reagenser til amplifikation fra andre kit i handlen.

- Må ikke genbruges.
- Sørg for at opbevare alle NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips beskyttet mod lys og fugt i deres aluminiumsposer.
- En gyldig testkalibrering genereret ved at behandle høje og lave kalibratorer fra NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators (REF 801000) skal være tilgængelig, inden testresultaterne kan genereres for kliniske prøver.
- NeuMoDx™ HHV-6 External Controls (REF 901000) skal behandles med 24 timers mellemrum under testning med NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip.
- Mindste prøvevolumen afhænger af rørstørrelse, prøverørsholder og prøvevolumen som defineret nedenfor. Et volumen under den anførte minimumsværdi kan resultere i fejlen "Quantity Not Sufficient" (kvantitet ikke tilstrækkelig).
- Anvendelse af prøver, der har været opbevaret ved forkert temperatur eller i længere tid end den anførte opbevaringstid, kan resultere i ugyldige eller fejlbehæftede resultater.
- Undgå mikrobiel kontaminering og kontaminering med deoxyribonuklease (DNase) af alle reagenser og forbrugsvarer. Det anbefales at bruge sterile DNase-fri overførselspipetter til engangsbrug, hvis der anvendes sekundære prøverør. Anvend en ny pipette for hver prøve.
- Undgå at håndtere eller adskille en NeuMoDx™ Cartridge efter amplifikation for at undgå kontaminering. Opsaml under ingen omstændigheder NeuMoDx™ Cartridges fra opsamlingsbeholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx™ 288 Molecular System) eller beholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx™ 96 Molecular System). NeuMoDx™ Cartridge er designet til at forhindre kontaminering.
- I tilfælde, hvor laboratoriet også udfører PCR-tests på åbne rør, skal der udvises forsigtighed for at sikre, at NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, de yderligere forbrugsvarer og reagenser, der skal bruges til testning, personligt beskyttelsesudstyr som f.eks. handsker og laboratoriekittler og NeuMoDx™ System ikke er kontamineret.
- Der skal anvendes rene, puddefri nitrilhandsker ved håndtering af NeuMoDx™-reagenser og -forbrugsvarer. Der skal udvises forsigtighed, så den øverste overflade i NeuMoDx™ Cartridge, den folieforsglede overflade i NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip eller NeuMoDx™ Extraction Plate eller den øverste flade i NeuMoDx™ Lysis Buffer 1-beholderen ikke berøres. Håndtering af forbrugsvarerne og reagenserne må kun foregå ved at berøre sidefladerne.
- Sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for hvert reagens (efter relevans) findes på www.neumodx.com/client-resources.
- En lodret bjælke i tekstmargenen angiver ændringer i forhold til den tidligere version af indlægssedlen.
- Vask hænderne grundigt, når testen er udført.
- Der må ikke pipetteres med munden. Der må ikke ryges, drikkes eller spises på områder, hvor der håndteres prøver eller reagenser.
- Prøver skal altid behandles som værende smittefarlige og i overensstemmelse med sikre laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i OSHA Standard on Bloodborne Pathogens⁶. Biosafety Level (Biosikkerhedsniveau) ²⁷ eller andre relevante regler for biosikkerhed^{8,9} skal anvendes i forbindelse med materialer, som mistænkes for at indeholde smittefarlige stoffer.
- Bortskaf ubrugte reagenser og affald i overensstemmelse med nationale, provinsielle, statslige og lokale bestemmelser. Følg anbefalingerne i sikkerhedsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS).

PRODUKTOPBEVARING, -HÅNTERING OG -STABILITET

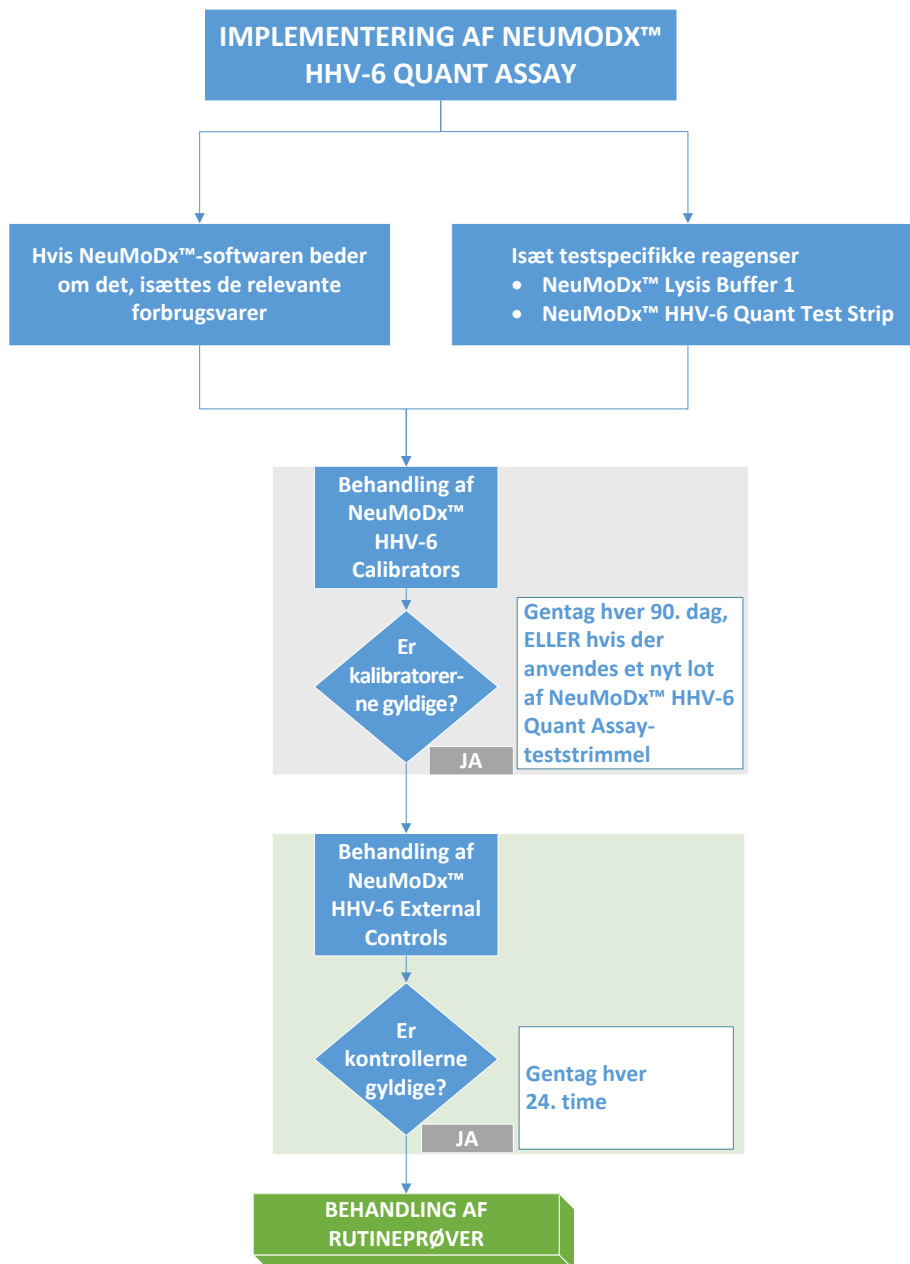
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips er stabile i den primære emballage ved +15 °C/+30 °C og indtil den angivne udløbsdato på den umiddelbare produktetiket.
- Når en NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip er sat i NeuMoDx™ System, er den stabil i 32 dage. NeuMoDx™ System-softwaren giver besked, når det er tid til at fjerne teststrimler, der har været i brug i NeuMoDx™ System i mere end 32 dage, og nye NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips skal åbnes (fjern strimlerne fra posen) og isættes i NeuMoDx™ System. Fjern ikke aluminiumsfolien fra strimlen under isætning i teststripholderen.
- NeuMoDx™ HHV-6-kalibratorerne og -kontrollerne er ikke-infektøse, men skal bortskaffes som biologisk farligt laboratorieaffald efter brug, da de indeholder målmateriale, hvilket kan medføre kontaminering, hvis det ikke håndteres korrekt.

PRØVEINDSAMLING, TRANSPORT OG OPBEVARING

1. Håndter alle prøver, som om de kan overføre smitstoffer.
2. Fuldblod eller plasmaprøver, der opbevares i primære rør, må ikke nedfryses.
3. Fuldblod skal opsamles i sterile rør, der indeholder EDTA til antikoagulation, til klargøring af plasmaprøver. Følg instruktionerne fra producenten af prøvetagningsrørene.
4. Fuldblod, der er opsamlet i de enheder, der er anført på listen ovenfor, skal opbevares og/eller transporteres i op til 24 timer ved +2 °C/+8 °C inden klargøring af plasma. Klargøring af prøver skal foretages i henhold til producentens anvisninger.
5. Klargjort plasma kan opbevares i NeuMoDx™ System i op til 24 timer inden behandling. Hvis yderligere opbevaringstid er påkrævet, anbefales det, at prøverne enten nedkøles eller nedfryses som sekundære alikvoter.
6. Klargjorte plasmaprøver skal opbevares ved +2 °C/+8 °C i maksimalt 8 dage før testning og i maksimalt 24 timer ved stuetemperatur.
7. Klargjorte prøver kan opbevares ved < -20 °C i op til 8 uger inden behandling. Prøver må ikke udsættes for mere end 2 cyklusser med frysning/optøning, inden de anvendes:
 - a. Hvis prøverne fryses, skal de tørt helt op ved stuetemperatur (+15 °C/+30 °C) inden testning. Bland dem i vortexer for at få en ensartet fordeling i prøverne.
 - b. Når de frosne prøver er tørt, skal testen udføres inden for 24 timer.
8. Hvis prøverne sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende regler i landet og/eller internationale regler.

9. Mærk prøverne tydeligt, og angiv, at de er til HHV-6A- og/eller HHV-6B-testning.
10. Fortsæt med afsnittet *Testklargøring*.

Den samlede proces for implementering af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay opsummeres i *figur 1*.



Figur 1: Arbejdsgang for implementering af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

BRUGSANVISNING

Testklargøring

For plasmaprøver kan NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay køres direkte fra primære blodprøvetagningsrør eller fra prøvealiquoter i sekundære rør.

1. Sæt en strekkodeetiket på et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx™ System. Det primære blodprøvetagningsrør kan forsynes med etiket og sættes direkte i en passende prøverørsholder efterfulgt af centrifugering i henhold til producentens vejledning.
2. Hvis plasmaprøven skal testes i det primære prøvetagningsrør, skal du sætte røret med strekkode i en prøverørsholder og sørge for, at hættens er taget af, inden røret sættes i NeuMoDx™ System. Mindstevolumener **over** gel/buffylag er defineret herunder og vil være opfyldt, hvis prøver opsamles og behandles i henhold til rørr producentens vejledning. Ydeevnen kan ikke garanteres for prøver, der er opsamlet ukorrekt.
3. Ved brug af plasmaprøver i et sekundært rør skal der overføres en aliquot af prøven til et prøverør med strekkode, der er kompatibelt med NeuMoDx™ System, i henhold til nedenstående mængder:

Prøverørsholder	Rørstørrelse	Mindste nødvendige prøvevolumen
Prøverørsholder til 32 rør	11-14 mm diameter gange 60-120 mm højde	750 µL
Prøverørsholder til 24 rør	14,5-18 mm diameter gange 60-120 mm højde	1100 µL
Prøverørsholder med lavt volumen	1,5 mL mikrocenrifugerør med konisk bund	650 µL

NeuMoDx™ System-drift

Der er flere oplysninger i brugervejledningerne til NeuMoDx™ 288 og 96 Molecular System (P/N 40600108 og 40600317)

1. Sæt testbestillingen i NeuMoDx™ System i henhold til den ønskede rørtype.
2. Klip aluminiumsposerne med NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips op på det sted, der er angivet med de laterale hak.
3. Tag først stripsene ud af posen umiddelbart før brug.
4. Før du bruger poserne, skal du altid sikre, at de er godt forseglede, og at tørremiddelposen stadig er indeni. Brug kun ubeskadigede poser.
5. Bortskaf aluminiumsposerne og deres indhold, hvis posen med tørremiddel ændrer farve fra orange til grøn.
6. Fyld en eller flere NeuMoDx™ System Test Strip-holder(e) med NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip(s), og brug berøringsskærmen til at sætte teststripholderne i NeuMoDx™ System.
7. Hvis NeuMoDx™ System-softwaren beder om det, skal de nødvendige forbrugsvarer tilsættes til NeuMoDx™ Systems holdere til forbrugsvarer og berøringsskærmen bruges til at sætte holderen/holderne i NeuMoDx™ System.
8. Hvis NeuMoDx™ System-softwaren beder om det, skal du udskifte NeuMoDx™ Wash Reagent og NeuMoDx™ Release Reagent. Primingaffald, opsamlingsbeholderen til biologisk farligt affald (kun NeuMoDx 288 Molecular System), beholder til biologisk farligt spidsaffald (kun NeuMoDx™ 96 Molecular System) eller beholderen til biologisk farligt affald (kun NeuMoDx™ 96 Molecular System) tømmer efter behov.
9. Hvis NeuMoDx™ System-softwaren beder om det, skal kalibratorerne (REF 801000) og/eller External Controls (REF 901000) behandles som påkrævet. Der er yderligere oplysninger vedrørende kalibratoren og kontroller i afsnittet Resultatbehandling.
10. Indsæt kalibratoren/prøverørene i en standardudgave af prøverørsholderen til 32 rør, og sørg for, at hættene er taget af alle rør.
11. Anbring prøverørsholderen/-holderne på hylden til automatisk isætning, sørg for, at hættene er taget af alle rør, og brug berøringsskærmen til at isætte holderen/holderne i NeuMoDx™ System. Derved startes behandlingen af de isatte prøver for de identificerede tests, forudsat at der er en gyldig testbestilling i systemet.

BEGRÆNSNINGER

- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip kan kun anvendes på NeuMoDx™ Systems.
- Ydeevnen for NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip er blevet fastlagt for plasmaprøver, der blev klargjort fra fuldblod, der var opsamlet med EDTA som et antikoagulerende middel. Anvendelsen af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sammen med andre prøvetyper er ikke vurderet, og ydelseskaraktistika for testen kendes ikke for andre prøvetyper.
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay må ikke anvendes med prøver fra personer, der har fået blodfortyndende medicin.
- Da påvisningen af HHV-6A- og/eller HHV-6B-DNA afhænger af antallet af organismer, der er til stede i prøven, afhænger pålidelige resultater af korrekt prøveindsamling, håndtering og opbevaring.
- Der kan forekomme fejlbehæftede resultater fra forkert prøveindsamling, håndtering, opbevaring, tekniske fejl eller forveksling af prøverør. Desuden kan der forekomme falske negative resultater, fordi antallet af viruspartikler i prøven er under påvisningsgrænsen i NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.
- Kun personale, der er uddannet i brugen af NeuMoDx™ System, må betjene NeuMoDx™ System.
- Hvis HHV-6A-, HHV-6B- og SPC1-målene ikke amplificeres, vil resultatet blive rapporteret som ugyldigt (Indeterminate (ubestemmeligt) eller Unresolved (uafklaret)), og testen skal gentages.
- Hvis der optræder en systemfejl, inden prøven af færdigbehandlet, rapporteres "No Result" (intet resultat), og testen skal gentages.
- Hvis resultatet fra NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay er Positive (positivt), men kvantificeringsværdien er under grænserne for kvantificering, rapporterer NeuMoDx™ System, om det påviste HHV-6A- og/eller HHV-6B-DNA er under den laveste grænse for kvantificering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller over den laveste grænse for kvantificering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Hvis det påviste HHV-6A- og/eller HHV-6B-DNA er over ULoQ, kan NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay gentages med en fortyndet alikvot af den oprindelige prøve. Det anbefales at anvende en fortynding på 1:100 eller 1:1000 i HHV-6A- og HHV-6B-DNA-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Systemet beregner automatisk koncentrationen af den oprindelige prøve som følger: Oprindelig prøvekoncentration = \log_{10} (fortyndingsfaktor) + rapporteret koncentration af den fortyndede prøve, så længe fortyndingsfaktoren er valgt korrekt i softwaren inden gentagelse.
- Der kan af og til være en forekomst af PCR-hæmmere i plasma, som kan føre til en Quantitation Error (kvantificeringsfejl) i systemet. Hvis det sker, anbefales det at gentage testen med samme prøve fortyndet i Basematrix med 1:10 eller 1:100.
- Et positivt resultat indikerer ikke nødvendigvis forekomsten af levedygtige organismer. Et positivt resultat indikerer dog tilstedeværelsen af HHV-6A og/eller HHV-6B DNA.
- Deletion eller mutationer i de bevarede regioner, som NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay er målrettet mod, kan få indflydelse på påvisningen eller føre til et fejlbehæftet resultat ved brug af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip.
- Resultaterne fra NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay skal anvendes som et supplement til kliniske observationer og andre oplysninger, der er tilgængelige for lægen. Testen er ikke beregnet til diagnosticering af infektion.
- God laboratoriepraksis anbefales, herunder handskeskift mellem håndtering af patientprøver for at undgå kontaminering.

RESULTATBEHANDLING

Tilgængelige resultater kan vises eller udskrives fra fanen "Results" (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på NeuMoDx™ Systems berøringskærm. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay-resultater genereres automatisk af NeuMoDx™ System-softwaren ved hjælp af beslutningsalgoritmen og de parametre for resultatbehandling, der er angivet i NeuMoDx™ HHV-6-analysedefinitionsfilen. Et resultat med NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay kan rapporteres som Negative (negativt), Positive (positivt) med en rapporteret HHV-6A-og/eller HHV-6B-koncentration, Positive (positivt) over ULoQ, Positive (positivt) under LLoQ, Indeterminate (IND) (ubestemmeligt), No Result (NR) (intet resultat) eller Unresolved (UNR) (uafklaret) baseret på målets og prøveproceskontrollens amplifikationsstatus. Resultater rapporteres ud fra ADF-beslutningsalgoritmen for resultatbehandling, som er opsummeret nedenfor i *Table 1*.

Resultater fra NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip fortolkes sammen med resultater af andre kliniske undersøgelser eller laboratorieundersøgelser.

Tabel 1: Opsummering af fortolkningen af resultaterne for NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Resultat	HHV-6A/HHV-6B	Prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1)	Fortolkning af resultat
Positive (positivt) med rapporteret koncentration	Amplified (amplificeret) $2,30 \leq [\text{HHV-6A}] \leq 6,0 \log_{10}$ kopier/mL	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HHV-6A-DNA påvist inden for kvantitativt område
	Amplified (amplificeret) $2,30 \leq [\text{HHV-6B}] \leq 6,0 \log_{10}$ IE/mL	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HHV-6B-DNA påvist inden for kvantitativt område
Positive (positivt), over øverste grænse for kvantitering [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]	Amplified (amplificeret) $[\text{HHV-6A}] > 6,0 \log_{10}$ kopier/mL	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HHV-6A-DNA påvist over kvantitativt område
	Amplified (amplificeret) $[\text{HHV-6B}] > 6,0 \log_{10}$ IE/mL	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HHV-6B-DNA påvist over kvantitativt område
Positive (positivt), under laveste grænse for kvantitering [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]	Amplified (amplificeret) $[\text{HHV-6A}] < 2,30 \log_{10}$ kopier/mL	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HHV-6A-DNA påvist under kvantitativt område
	Amplified (amplificeret) $[\text{HHV-6B}] < 2,30 \log_{10}$ IE/mL	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HHV-6B-DNA påvist under kvantitativt område
Negative (negativ)*	Not Amplified (ikke amplificeret)	Amplified (amplificeret)	HHV-6A/HHV-6B-DNA ikke påvist
Indeterminate (ubestemmelig)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (ikke amplificeret, systemfejl registreret, prøvebehandling fuldført)		Alle målresultater var ugyldige – test prøven igen†
No Result (intet resultat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (ikke amplificeret, systemfejl registreret, prøvebehandling afbrudt)		Prøvebehandlingen blev afbrudt – test prøven igen†
Unresolved (uafklaret)	Not Amplified, No System Error Detected (ikke amplificeret, ingen systemfejl registreret)		Alle målresultater var ugyldige – test prøven igen†

* I lighed med andre tests udelukker negative resultater ikke HHV-6A- og/eller HHV-6B-infektion.

† NeuMoDx™ System har en automatisk funktion til Rerun (ny kørsel)/Repeat (gentag), som slutbrugeren kan vælge for at sikre, at et IND (ubest.)/NR (uafkl.)/UNR (intet res.)-resultat genbehandles automatisk for at sikre så hurtige resultater som muligt.

Testberegning

- For prøver, der ligger inden for kvantificeringsområdet for NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, beregnes koncentrationen af HHV-6A-DNA og HHV-6B-DNA i prøverne ved hjælp af de relative gemte standardkurver sammen med kalibreringskoefficienterne.
 - Ud fra resultaterne af behandlede NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators beregnes der en kalibreringskoefficient for hvert mål for at fastlægge gyldigheden af standardkurven for en bestemt lot af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip på et bestemt NeuMoDx™ System.
 - Kalibreringskoefficienten indgår i den endelige bestemmelse af koncentrationen af HHV-6A-DNA og HHV-6B-DNA.
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay-resultaterne rapporteres i \log_{10} kopier/mL og kopier/mL for HHV-6A-mål, og i \log_{10} IE/mL og IE/mL for HHV-6B-mål.
- Den resulterende kvantificering af de ukendte prøver kan spores til EDX HHV-6A verificeringspanelet (Exact Diagnostics) kvantificeret ved digital dråbe PCR (ddPCR) og til den 1. WHO International Standard for HHV-6B virus-DNA (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC-kode: 15/266).

Testkalibrering

En gyldig kalibrering baseret på standardkurven er nødvendig for at kvantificere HHV-6A-DNA og/eller HHV-6B-DNA i prøverne. For at generere gyldige resultater skal der gennemføres en testkalibrering for både HHV-6A og HHV-6B med de kalibratorer, der er leveret af NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Kalibratører

1. NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators leveres i et kit (REF 801000) og består af en tørret pellet af syntetisk HHV-6A-DNA og HHV-6B-DNA og en specifik buffer.
2. Der skal behandles et sæt HHV-6-kalibratører med hvert ny lot NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips, hvis der uploades en ny HHV-6 Assay Definition File i NeuMoDx™ System, hvis det aktuelle kalibratorsæt har overskredet gyldighedsperioden (i øjeblikket indstillet til 90 dage), eller hvis NeuMoDx™ System-softwaren ændres.
3. NeuMoDx™ System-softwaren informerer brugeren om, hvornår kalibratørene skal behandles. Et nyt lot af teststrimler kan ikke bruges, før behandlingen af kalibratørene er gennemført.
4. Hvis et nyt sæt HHV-6-kalibratører skal behandles, skal du læse alle instruktionerne på indlægssedlen til NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators, inden du udfører testen.
5. Kalibreringens gyldighed fastlægges efter følgende metode:
 - a. Der skal genereres to kalibreringskoefficienter, én for HHV-6A og én for HHV-6B, ved at behandle et sæt af to kalibratører for hvert mål – høj og lav – for at etablere gyldigheden af hver kurve.
 - b. For at generere gyldige resultater skal mindst 2 ud af 3 replikater give resultater inden for på forhånd definerede parametre. Det nominelle mål for den lave kalibrator er 3,0 log₁₀ kopier/mL, og det nominelle mål for den høje kalibrator er 5,0 log₁₀ kopier/mL for HHV-6A-kalibratorsæt, mens det nominelle mål for den lave kalibrator er 3,0 log₁₀ IE/mL, og det nominelle mål for den høje kalibrator er 5,0 log₁₀ IE/mL for HHV-6B-kalibratorsæt.
 - c. Der beregnes en kalibreringskoefficient for at tage højde for forventet variation mellem teststrimmellots. Denne kalibreringskoefficient anvendes til bestemmelse af den endelige HHV-6A- og/eller HHV-6B-koncentration.
6. Hvis gyldighedskontrollen ikke lykkes for den ene eller begge kalibratører, skal behandlingen af den eller disse kalibrator(er) gentages med et nyt hætteglas. Hvis gyldigheden ikke er som ønsket for en kalibrator, er det muligt kun at gentage denne kalibrator, da systemet ikke kræver, at brugeren skal køre begge kalibratører igen.
7. Hvis gyldighedskontrollen ikke lykkes for kalibratoren/kalibratørene for anden gang i træk, skal du kontakte teknisk support hos QIAGEN.

Kvalitetskontrol

Lokale bestemmelser angiver typisk, at laboratoriet er ansvarligt for kontrolprocedurer, der monitorerer nøjagtighed og præcision for hele den analytiske proces og skal dokumentere antal, type og hyppighed for testkontrolmaterialer ved hjælp af verificerede ydelsesspecifikationer for et umodificeret, godkendt testsystem.

Eksterne kontroller

1. HHV-6A og HHV-6B External Controls (REF 901000) leveres af NeuMoDx™. De positive kontroller indeholder en tørret pellet af syntetisk HHV-6A- og HHV-6B-DNA. Den negative kontrol er buffer.
2. Der skal behandles positive og negative eksterne kontroller hver 24. time. Hvis et sæt gyldige eksterne kontroller ikke findes, vil NeuMoDx™ System-softwaren bede brugeren om, at behandle disse kontroller, inden prøveresultaterne kan rapporteres.
3. Hvis eksterne kontroller er påkrævet, skal du klargøre de positive og negative kontroller som angivet på indlægssedlen til HHV-6 External Controls, før testen udføres.
4. Ved hjælp af berøringsskærmen og en prøverørsholder, der er anbragt på hylden til automatisk isætning, isættes hætteglassene med positiv og negativ kontrol i NeuMoDx™ System. NeuMoDx™ System genkender strekkoden og begynder behandlingen af de eksterne kontrolrør, medmindre de reagenser eller forbrugsvarer, der skal bruges til testen, ikke er tilgængelige.
5. Gyldigheden af eksterne kontroller vil blive vurderet af NeuMoDx™ System baseret på det forventede resultat. Den positive kontrol bør give et HHV-6A- og HHV-6B-positivt resultat, og den negative kontrol bør give et HHV-6A- og HHV-6B-negativt resultat.
6. Et afvigende resultat for eksterne kontroller håndteres som følger:
 - a. Et Positive (positivt) testresultat rapporteret for en negativ kontrolprøve indikerer et problem med kontaminering af en prøve, og det er nødvendigt at undersøge laboratoriets kvalitetskontrolprocedurer for at finde den grundlæggende årsag. Sørg for at anvende separate områder til prøveklargøring, kontrolhåndtering og realtids-PCR-opsætning. Se yderligere fejlfindingsråd i *brugervejledningen til NeuMoDx 288 eller 96 Molecular System*.
 - b. Et Negative (negativt) testresultat, der rapporteres for en positiv kontrolprøve, kan indikere et problem i forbindelse med et reagens eller et instrument.
 - c. I begge ovenstående tilfælde eller i tilfælde af, at der rapporteres et No Result (NR) (intet resultat), Unresolved (UNR) (uafklaret) eller Indeterminate (IND) (ubestemmeligt) resultat, skal den eller de mislykkede kontroller gentages med et nyoptøjet hætteglas for den eller de kontroller, hvor gyldighedstesten ikke lykkedes.
 - d. Hvis der fortsat rapporteres et Negative (negativt) resultat på en positiv NeuMoDx™ HHV-6 External Controls, skal du kontakte teknisk support hos QIAGEN.
 - e. Hvis der fortsat rapporteres et Positive (positivt) resultat for en negativ NeuMoDx™ HHV-6 External Controls, skal du forsøge at eliminere alle kilder til mulig kontaminering, herunder udskifte ALLE reagenser, inden du kontakter teknisk support hos QIAGEN.
7. Hvis de eksterne kontroller ikke giver de forventede resultater, er det nødvendigt at gentage et sæt positive og negative kontroller. Prøver bliver ikke behandlet, før et gyldigt sæt External Control-sæt er behandlet af systemet. I tilfælde af, at prøver er under behandling, mens eksterne kontroller udløber, kræver systemet, at der køres et gyldigt eksternt kontrolsæt. Hvis det eksterne kontrolsæt ikke giver gyldige resultater, rapporteres prøveresultaterne ikke.

(Interne) prøveproceskontroller

Der er indbygget en eksogen prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) i NeuMoDx™ Extraction Plate, og denne bliver udsat for hele processen med nukleinsyreekstraktion og realtids-PCR-amplifikation sammen med hver prøve/kontrol/kalibrator. Desuden indeholder hver NeuMoDx™ HHV-6A Quant Test Strip primere og probe, der er specifikke for SPC1, så SPC1 kan påvises sammen med HHV-6A- og/eller HHV-6B-mål-DNA (hvis dette er til stede) via multiplex-realtids-PCR. Påvisning af SPC1-amplifikation gør det muligt for NeuMoDx™ System-softwaren at monitorere effekten af DNA-ekstraktions- og PCR-amplifikationsprocesserne.

Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, der er udført i NeuMoDx™ System, ikke leverer et gyldigt resultat, rapporteres den som enten Indeterminate (IND) (ubestemmeligt), No Result (NR) (intet resultat) eller Unresolved (UNR) (uafklaret) baseret på den fejltipe, der fandt sted. Testen skal gentages for at sikre et gyldigt resultat.

Der rapporteres et Indeterminate (ubestemmeligt) resultat, hvis der registreres en NeuMoDx™ System-fejl under prøvebehandling. Hvis IND (ubestemmeligt) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

No Result (intet resultat) rapporteres, hvis der registreres en NeuMoDx System-fejl, og prøvebehandlingen afbrydes. Hvis No Result (intet resultat) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

Der rapporteres et UNR-resultat, hvis der ikke påvises et mål, og der ikke er amplifikation i HHV-6A DNA, HHV-6B DNA eller SPC1, som angiver en mulig reagensfejl eller forekomst af hæmmere. Hvis UNR (uafklaret) rapporteres som resultat, kan der køres en omtest som første trin. Hvis omtesten ikke lykkes, kan der anvendes en fortyndet prøve for at dæmpe virkningen af en eventuel prøveinhibering (se afsnittet om begrænsninger for yderligere instruktioner).

Se brugervejledningen til NeuMoDx 288 Molecular System (P/N: 40600108) eller brugervejledningen til NeuMoDx 96 Molecular System (P/N: 40600317) for at se en liste over fejlkoder, der kan knyttes til Invalid Results (ugyldige resultater).

YDELSKARAKTERISTIKA^{10,11,15}

Analytisk sensitivitet – påvisningsgrænse¹²

Den analytiske sensitivitet af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay blev beskrevet gennem test af en fortyndingsserie af EDX HHV-6A Verification Panel (fra Exact Diagnostics) og HHV-6B Verification Panel (fra Exact Diagnostics, kalibreret efter den første WHO International Standard for HHV-6B, 15/266), i HHV-6A/HHV-6B-negative plasmaprøver for at bestemme påvisningsgrænsen (Limit of Detection, LoD) i NeuMoDx™ Systems. Påvisningsgrænsen defineres som den mindste registrerbare koncentration med 95 % træfprocent. Dette er beregnet ved probitanalyse anvendt på eksperimentelle data med 95 % konfidensinterval (Confidence Interval, CI). Studiet blev foretaget i løbet af 3 dage med flere systemer med flere lots af NeuMoDx™-reagenser. Hvert system behandlede 42 replikater ved hvert fortyndingsniveau (positive prøver) og 8 replikater for negative prøver pr. dag. Påvisningsrater er afbildet i *Tabel 2*.

Tabel 2: Positive påvisningsrater til LoD-bestemmelse af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

HHV-6A					HHV-6B				
Målkonzentration [kopier/mL]	Målkonzentration [log ₁₀ kopier/mL]	Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate	Målkonzentration [IE/mL]	Målkonzentration [log ₁₀ IE/mL]	Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate
200	2,30	45	44	97,8 %	200	2,30	46	44	95,7 %
80	1,90	45	32	71,1 %	100	2,00	42	24	57,1 %
60	1,78	43	26	60,5 %	80	1,90	44	19	43,2 %
40	1,60	42	10	23,8 %	60	1,78	43	14	32,6 %
20	1,30	44	1	2,3 %	40	1,60	43	5	11,6 %
0	0	47	0	0 %	0	0	48	0	0 %

LoD for NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay blev bestemt til 123,5 kopier/mL (2,09 log₁₀ kopier/mL) ved probitanalyse (95 % konfidensinterval: 102,1 til 145,0 kopier/mL) for HHV-6A og 178,2 IE/mL (2,25 log₁₀ IE/mL) (95 % konfidensinterval: 151,3 til 205,0 IE/mL) for HHV-6B.

Analytisk sensitivitet – laveste kvantiteringsgrænse (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) og øverste kvantiteringsgrænse (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

Den laveste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) og den øverste grænse for kvantitering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) defineres som det øverste målniveau, hvor > 95 % påvisning opnås, OG TAE ≤ 1,0. For at bestemme LLoQ blev analytiske fejl i alt (Total Analytical Error, TAE) beregnet for hver af de HHV-6A og HHV-6B-målniveauer, der var vist i rapporterne med > 95 % påvisning som en del af Påvisning-beregningen. TAE defineres som følger:

$$TAE = |Bias| + 2 * SD \text{ [Westgard-regler]}$$

Biasen er den absolutte værdi af differencen mellem den beregnede koncentration og den forventede koncentration. SD refererer til standardafvigelsen af den kvantificerede værdi af prøven.

En samlet præsentation af resultaterne for de 5 niveauer af HHV-6A/HHV-6B-plasmaprøver, som blev brugt i LLoQ/UloQ-studiet, er vist i tabel 3 og 4. Baseret på dette datasæt og tidligere fastlagt LoD blev LLoQ og ULoQ bestemt til at være henholdsvis 200 kopier/mL (2,30 log₁₀ kopier/mL) og 1x10⁶ kopier/mL for HHV-6A, og 200 IE/mL (2,30 log₁₀ IE/mL) og 1x10⁶ IE/mL for HHV-6B.

Tabel 3: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; HHV-6A ULoQ og LLoQ med bias og TAE

Målkonc. [kopier/mL]	Målkonc. [log ₁₀ kopier/mL]	Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ kopier/mL]	Påvisning (%)	SD	Bias	TAE
10 ⁶	6,00	5,76	100 %	0,34	0,24	0,91
200	2,30	2,34	97,8 %	0,30	0,03	0,63
80	1,90	2,19	71,1 %	0,27	0,28	0,83
60	1,78	2,21	60,5 %	0,21	0,43	0,86
40	1,60	2,18	23,8 %	0,15	0,57	0,87
20	1,30	2,17	2,3 %	ikke relevant	0,87	ikke relevant

Tabel 4: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, HHV-6B ULoQ og LLoQ med bias og TAE

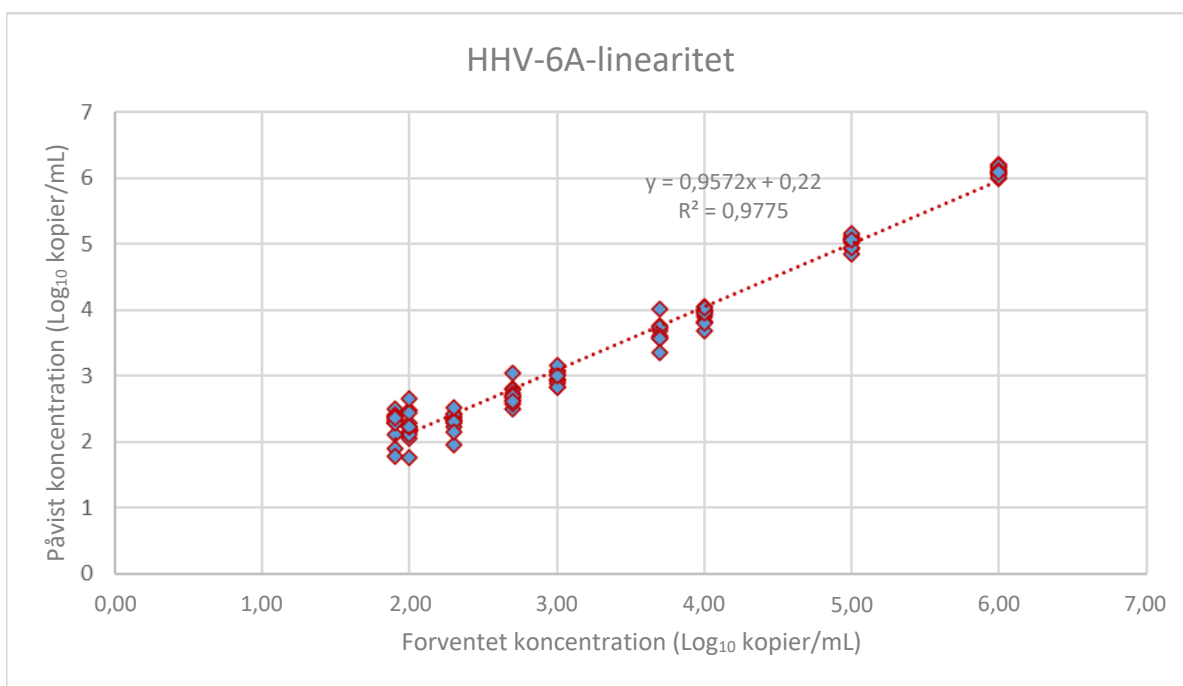
Målkonc. [IE/mL]	Målkonc. [log ₁₀ IE/mL]	Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ IE/mL]	Påvisning (%)	SD	Bias	TAE
10 ⁶	6,00	6,06	100 %	0,32	0,06	0,71
200	2,30	2,12	95,7 %	0,22	0,18	0,62
100	2,00	2,04	57,1 %	0,24	0,04	0,52
80	1,90	1,99	43,2 %	0,26	0,08	0,61
60	1,78	1,92	32,6 %	0,26	0,15	0,67
40	1,60	1,79	11,6 %	0,22	0,19	0,62

Baseret på resultatet af disse studier blev LoD for NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay fastlagt til at være 123,5 kopier/mL (2,09 log₁₀ kopier/mL) for HHV-6A og 178,2 IE/mL (2,25 log₁₀ IE/mL) for HHV-6B. LoQ var 200 kopier/mL (2,30 log₁₀ kopier/mL) for HHV-6A og 200 IE/mL (2,30 log₁₀ IE/mL) for HHV-6B. ULoQ er 1x10⁶ kopier/mL for HHV-6A og 1x10⁶ IE/mL for HHV-6B.

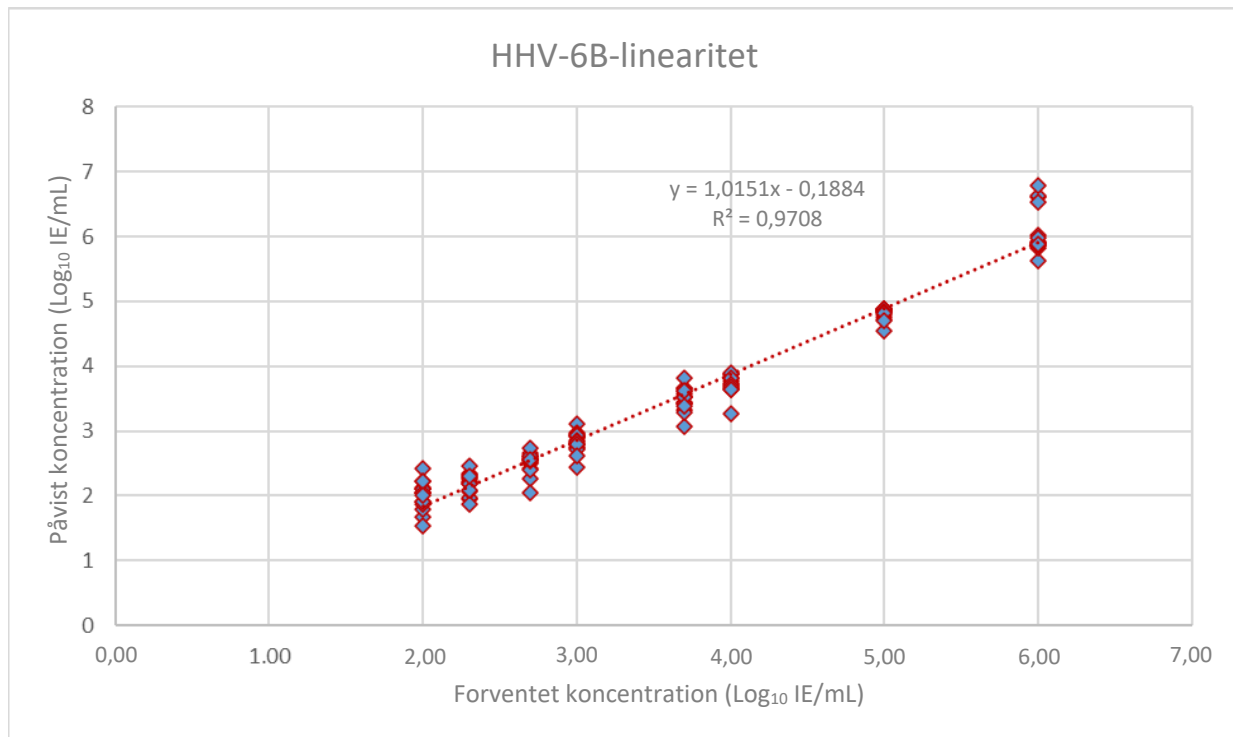
Linearitet¹³

Lineariteten af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip blev fastlagt i plasma ved at klargøre en fortyndingsserie ved brug af HHV-6A Verification Panel (fra Exact Diagnostics) og EDX HHV-6B Verification Panel (fra Exact Diagnostics). Der blev oprettet otte (8) serielle fortyndinger af HHV-6A/HHV-6B-paneler, klargjort i HHV-6A/HHV-6B negativt humant plasma for at dække et koncentrationsområde på 6 – 2 log₁₀ kopier/mL.

De HHV-6A/HHV-6B-analysekonzentrationer, der blev rapporteret fra NeuMoDx™ System sammenlignet med de forventede værdier, er vist i figur 2 og 3.



Figur 2: Linearitet for NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay for HHV-6A



Figur 3: Linearitet for NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay for HHV-6B

Analytisk specificitet – krydsreaktivitet^{10, 11}

Der blev påvist analytisk specificitet gennem screening af 22 organismer, der er almindeligt forekommende i plasmaprøver, samt arter, som fylogenetisk svarer til HHV-6A og HHV-6B med hensyn til krydsreaktivitet. Organismerne blev klargjort i pools af 5/6 organismer hver og testet ved en høj koncentration (3,48 log₁₀ kopier/mL). De testede organismer er vist i *tabel 5*. Der sås ingen krydsreaktivitet med nogen af de testede organismer, hvilket bekræfter 100 % analytisk specificitet for NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

Tabel 5: Patogener anvendt til at påvise analytisk specificitet

Ikke-målorganismer					
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humant immunodefektvirus-1	Hepatitis B-virus	Adenovirus type 5	Epstein-Barr Virus	Varicella-Zoster-virus	Enterovirus 68
BK-virus	Herpes simplex-virus 1	Herpes simplex-virus 2	Humant gammaherpesvirus 8	Cytomegalovirus	Humant betaherpesvirus 7
HTVL-1	HTVL-2	JC Virus	SV40	Humant immunodefektvirus-2	

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, kommensale organismer^{10, 11}

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay blev vurderet for interferens ved forekomst af ikke-målorganismer, hvor de samme organismepools blev brugt, som dem der var klargjort til test for krydsreaktivitet i listen ovenfor i *tabel 6*. Negativt HHV-6A/HHV-6B-plasma blev tilsat de organismer, der var poollet i grupper på 4-7 og tilsat HHV-6A/HHV-6B-mål i en koncentration på 2,78 log₁₀ IE/mL (600 IE/mL, 3x LoD). Der sås ingen signifikant interferens ved forekomst af disse kommensale organismer, som angivet i kraft af den minimale afvigelse i kvantiteringen i forhold til kontrolprøverne, som ikke indeholdt interfererende stoffer.

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, endogene og eksogene stoffer^{10, 11}

NeuMoDx™ HHV-6A Quant Assay blev vurderet ved forekomst af de typiske eksogene og endogene interfererende stoffer, der findes i kliniske HHV-6A/HHV-6B-plasmaprøver. Disse omfattede unormalt høje niveauer af blodkomponenter samt almindelige antivirale lægemidler, som er klassificeret i tabel 6. Hvert stof blev tilføjet i screenet HHV-6A/HHV-6B-negativt humant plasma tilsat 2,78 log₁₀ IE/mL (600 IE/mL, 3x LoD) HHV-6A/HHV-6B, og prøverne blev analyseret for interferens.

Den gennemsnitlige koncentration og bias for alle testede stoffer sammenlignet med kontrolprøverne, som har fået tilsat samme niveau af HHV-6A/HHV-6B, er rapporteret i tabel 7. Ingen af de eksogene og endogene stoffer påvirkede specificiteten af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

Tabel 6: Interferenstest – eksogene midler (klassificeret som lægemidler)

Pool	Lægemiddelnavn	Klassifikation
Pool 1	Valganciclovir	ANTIVIRALT MIDDEL
	Prednison	IMMUNSUPPRIMERENDE LÆGEMIDDEL
	Cidofovir	ANTIVIRALT MIDDEL
	Cefotaxim	ANTIBIOTIKA
	Mycophenolatmofetil	IMMUNSUPPRIMERENDE LÆGEMIDDEL
Pool 2	Vancomycin	ANTIBIOTIKA
	Tacrolimus	IMMUNSUPPRIMERENDE LÆGEMIDDEL
	Famotidin	HISTAMINANTAGONIST
	Valacyclovir	ANTIVIRALT MIDDEL
	Leflunomid	IMMUNSUPPRIMERENDE LÆGEMIDDEL

Tabel 7: Interferenstest – eksogene og endogene midler

Endogene (plasma)	HHV-6A		HHV-6B	
	Gennemsnitlig konc.	Bias	Gennemsnitlig konc.	Bias
	log ₁₀ kopier/mL	log ₁₀ kopier/mL	log ₁₀ IE/mL	log ₁₀ IE/mL
Triglycerider (500 mg/dL)	1,91	0,24	2,10	-0,13
Konjugeret bilirubin (0,25 g/L)	2,14	0,01	2,07	-0,10
Ukonjugeret bilirubin (0,25 g/L)	1,71	0,44	1,61	0,37
Albumin (58,7 g/L)	2,27	-0,13	2,04	-0,06
Hæmoglobin (2,9 g/L)	2,23	-0,08	1,98	-0,01
Humant DNA (2 mg/mL)	1,74	0,41	1,86	0,12
Eksogene (lægemidler)	Gennemsnitlig konc.	Bias	Gennemsnitlig konc.	Bias
	log ₁₀ kopier/mL	log ₁₀ kopier/mL	log ₁₀ IE/mL	log ₁₀ IE/mL
	Pool 1: Valganciclovir, Prednison, Cidofovir, Cefotaxim, Mycophenolatmofetil	1,65	0,28	2,07
Pool 2: Vancomycin, Tacrolimus, Famotidin, Valacyclovir, Leflunomid	2,18	-0,25	1,97	0,16

Repetérbarhed og præcision i laboratoriet¹⁴

Præcisionen af NeuMoDx™ HHV-6A Quant Test Strip blev bestemt ved at teste 2 replikater af et panel med 3 elementer med HHV-6A/HHV-6B-prøver klargjort med HHV-6A- eller HHV-6B-plasmid to gange dagligt ved brug af ét NeuMoDx™ 96 System i 20 dage. Præcisionen inden for samme kørsel inden for samme dag blev beskrevet, og den samlede standardafvigelse blev bestemt til at være ≤ 0,25 log₁₀ kopier/mL for HHV-6A og ≤ 0,25 log₁₀ IE/mL for HHV-6B. Der blev konstateret fremragende præcision uanset valg af dage og kørsler, som det er vist i Tabel 8. Præcisionen fra operatør til operatør blev ikke beskrevet, da operatøren ikke har nogen særlig indflydelse på behandlingen af prøver i NeuMoDx™ System.

Tabel 8: Præcision af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay på NeuMoDx™ System 96 på samme laboratorium

Prøve	SD for repeterbarhed	SD inden for forskellige kørsler	Standardafvigelse i løbet af en dag	SD på forskellige dage	Samlet standardafvigelse (på laboratoriet)
HHV-6A					
5,67 log ₁₀ kopier/mL	0,166	0,000	0,166	0,051	0,173
4,67 log ₁₀ kopier/mL	0,071	0,000	0,071	0,048	0,086
3,67 log ₁₀ kopier/mL	0,190	0,028	0,192	0,059	0,200
2,48 log ₁₀ kopier/mL	0,151	0,051	0,159	0,000	0,159
HHV-6B					
5,14 log ₁₀ IE/mL	0,217	0,000	0,217	0,070	0,228
4,14 log ₁₀ IE/mL	0,155	0,000	0,155	0,056	0,165
3,14 log ₁₀ IE/mL	0,141	0,000	0,141	0,038	0,146
2,70 log ₁₀ IE/mL	0,225	0,079	0,239	0,000	0,239

Reproducerbarhed fra lot til lot¹⁴

Reproducerbarheden af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip fra lot til lot blev bestemt ved brug af tre forskellige lots af NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips. Der blev anvendt et panel på 4 elementer af HHV-6A og HHV-6B klargjort med HHV-6A Verification Panel (fra Exact Diagnostics) eller EDX HHV-6B Verification Panel (fra Exact Diagnostics) til vurdering af ydeevnen på ét NeuMoDx™ 96 Molecular System over 5 separate kørsler. Variationen fra lot til lot og for alle lot blev analyseret og resultaterne udtrykt som standardafvigelse mellem lot fremgår af *Tabel 9*. Den største maksimale standardafvigelse var 0,257 kopier/mL. Lignende ydeevne blev påvist på tværs af lot, da standardafvigelsen for alle panelelementer var inden for tolerancespecifikationen (Reproducerbarhed SD ≤ 0,3 log₁₀ kopier/mL).

Tabel 9: Reproducerbarhed fra lot til lot – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Prøve	SD for repeterbarhed	SD på forskellige dage	Standardafvigelse inden for lot	Standardafvigelse fra lot til lot	SD for reproducerbarhed
HHV-6A					
4,73 x10 ⁵ kopier/mL	0,160	0,061	0,171	0,073	0,186
4,73 x10 ³ kopier/mL	0,166	0,087	0,188	0,069	0,200
600 kopier/mL	0,099	0,088	0,132	0,091	0,160
HHV-6B					
1,38 x10 ⁵ IE/mL	0,199	0,161	0,256	0,025	0,257
1,38 x10 ³ IE/mL	0,214	0,068	0,224	0,093	0,243
600 IE/ml	0,120	0,069	0,139	0,062	0,152

Reproducerbarhed mellem instrumenter¹⁴

Reproducerbarheden fra instrument til instrument med NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip blev bestemt ved brug af tre forskellige systemer (et NeuMoDx™ 288 Molecular System og to NeuMoDx™ 96 Molecular Systems). Der blev anvendt et panel på 4 elementer af HHV-6A/HHV-6B klargjort med HHV-6A Verification Panel (fra Exact Diagnostics) eller EDX HHV-6B Verification Panel (fra Exact Diagnostics) til vurdering af ydeevnen. Tests blev udført på systemerne i 5 dage. Variationen inden for samme dag og mellem systemer blev beskrevet, og den samlede standardafvigelse blev bestemt til at være ≤ 0,30 log₁₀ kopier/mL for HHV-6A og ≤ 0,30 log₁₀ IE/mL for HHV-6B. Der blev konstateret ækvivalent ydeevne i alle systemer, da SD i kvantiteringen af alle panelelementer var inden for specifikationen for tolerancen (tabel 10).

Tabel 10: Reproducerbarhed fra instrument til instrument – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Prøve	SD for repeterbarhed	SD på forskellige dage	SD inden for systemet	SD mellem systemer	SD for reproducerbarhed
HHV-6A					
5,67 log ₁₀ kopier/mL	0,228	0,000	0,228	0,000	0,228
4,67 log ₁₀ kopier/mL	0,149	0,000	0,149	0,021	0,151
3,67 log ₁₀ kopier/mL	0,210	0,101	0,233	0,000	0,233
2,48 log ₁₀ kopier/mL	0,157	0,079	0,176	0,000	0,176
HHV-6B					
5,14 log ₁₀ IE/mL	0,215	0,072	0,227	0,000	0,227
4,14 log ₁₀ IE/mL	0,259	0,014	0,260	0,023	0,261
3,14 log ₁₀ IE/mL	0,178	0,062	0,189	0,000	0,189
2,70 log ₁₀ IE/mL	0,149	0,079	0,169	0,000	0,169

REFERENCER

- 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.
- Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. Clin Microbiol Rev. 2015 Apr;28(2):313-35. doi: 10.1128/CMR.00122-14. PMID: 25762531; PMCID: PMC4402955.
- Hill JA. Human herpesvirus 6 in transplant recipients: an update on diagnostic and treatment strategies. Curr Opin Infect Dis. 2019 Dec;32(6):584-590. doi: 10.1097/QCO.0000000000000592. PMID: 31567413; PMCID: PMC7141773.
- Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Human Herpesviruses 6A, 6B, and 7. Microbiol Spectr. 2016 Jun;4(3). doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0007-2015. PMID: 27337451.
- 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,
- US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
- World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed.Geneva: World Health Organization, 2004.
- CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
- 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
- CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
- CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
- CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
- 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.
- CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
- CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

VAREMÆRKER















NeuMoDx™ er et varemærke, der tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® er et registreret varemærke, der tilhører Roche Molecular Systems, Inc.

Seracare® er et registreret varemærke tilhørende Seracare Life Sciences, Inc.

Alle andre produktnavne, varemærker og registrerede varemærker, der eventuelt vises i dette dokument, tilhører deres respektive ejere.

SYMBOLER

SYMBOL	BETYDNING
	Receptpligtig
	Producent
	Distributør
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinsk udstyr
	Katalognummer
	Batchkode
	Læs brugsanvisningen
	Forsigtig: Læs de medfølgende dokumenter
	Temperaturbegrænsning
	Opbevares tørt
	Må ikke genbruges
	Må ikke udsættes for sollys
	Indholdet er tilstrækkeligt til <n> tests
	Holdbarhedsdato



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

www.sentinel diagnostics.com



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

+1 888 301 NMDX (6639)

Teknisk support: support.qiagen.com
Indberetning af bivirkninger og uønskede
hændelser: support.qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents