



202400 NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip



ACHTUNG: Nur für den Export in die USA



Für die *In-Vitro*-Diagnostik mit den NeuMoDx™ 288 und NeuMoDx™ 96 Molecular Systems



Vor dem Gebrauch diese Packungsbeilage aufmerksam durchlesen. Die Anweisungen der Packungsbeilage sind entsprechend zu befolgen.

Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse kann nur bei genauer Befolgung der in der Packungsbeilage enthaltenen Anweisungen garantiert werden.

Ausführliche Anweisungen finden Sie im NeuMoDx™ 288 Molecular System Bedienerhandbuch P/N 40600108

Ausführliche Anweisungen finden Sie im NeuMoDx™ 96 Molecular System Bedienerhandbuch; P/N 40600317



VERWENDUNGSZWECK

Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay ist ein automatisierter In-vitro-Nukleinsäure-Amplifikationstest zur Quantifizierung und Differenzierung von Herpes-simplex-Virus-Typ-1-DNA (HSV-1, humanes Alphaherpesvirus 1) und/oder Herpes-simplex-Virus-Typ-2-DNA (HSV-2, humanes Alphaherpesvirus 2) in EDTA-Plasma von immungeschwächten Transplantationspatienten.^{1,2}

Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, der auf dem NeuMoDx™ 288 Molecular System und NeuMoDx™ 96 Molecular System durchgeführt wird, umfasst einen automatisierten DNA-Extraktionsschritt zur Isolierung der Zielnukleinsäure aus der Probe und einen Real-Time-PCR-Schritt, um zwei stark konservierte Regionen im HSV-1- und HSV-2-Genom anzuvisieren.

Der Test ist als Hilfsmittel für die Überwachung von HSV-1- und/oder HSV-2-DNA-Konzentrationen in EDTA-Plasma bestimmt. Dieser Test ist gemeinsam mit dem klinischen Bild und anderen Labormarkern für den Krankheitsverlauf beim klinischen Management und Monitoring von HSV-1- und/oder HSV-2-Infektionen vorgesehen.

Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay ist nicht zur Verwendung als Screening-Test für HSV-1/HSV-2-DNA in Blut oder Blutprodukten vorgesehen.

Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay darf nur von entsprechend qualifiziertem klinischem Laborpersonal durchgeführt werden, das speziell in den Techniken der Real-Time-PCR und In-vitro-Diagnoseverfahren und/oder NeuMoDx™ Molecular Systems geschult wurde. Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay ist nicht für Selbsttests oder Point-of-Care-Anwendungen vorgesehen.

INHALT UND ERKLÄRUNG

Menschliches Vollblut, das in sterilen Blutentnahmeröhrchen, die EDTA als Antikoagulationsmittel enthalten, oder in PPT-Röhrchen gesammelt wird, kann für die Zubereitung von Plasma verwendet werden. Als Vorbereitungsschritt vor dem Test wird Plasma in einem Primär- oder Sekundärröhrchen, das mit dem NeuMoDx™ System kompatibel ist, anhand eines dafür vorgesehenen Röhrchenträgers in das NeuMoDx™ System geladen, um mit der automatischen Verarbeitung zu beginnen.

Ein 550 µL Aliquot der Plasmaprobe wird mit NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 gemischt und das NeuMoDx™ System führt automatisch alle erforderlichen Schritte durch, um die Zielnukleinsäure zu extrahieren, die isolierte DNA für die Real-Time-PCR-Amplifikation vorzubereiten und, falls vorhanden, die Amplifikationsprodukte zu amplifizieren und nachzuweisen. Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay enthält eine DNA-Probenprozesskontrolle (SPC1), mit deren Hilfe auf potenziell inhibierende Substanzen sowie mögliche Fehler des NeuMoDx™ System oder von Reagenzien während der Extraktions- und Amplifikationsschritte kontrolliert werden kann.

HSV-1 und HSV-2 sind weit verbreitete Infektionen die weltweit vorkommen. In den USA liegt die Seroprävalenz von HSV-1 und HSV-2 bei 58 % bzw. 17 %. Die Übertragung dieser Viren erfolgt durch direkten Kontakt mit infizierter Haut oder infizierten Sekreten. Zu einer Übertragung kann es während der Zeit des subklinischen Sheddings kommen, wenn keine Symptome vorhanden sind.^{3,4}

Bei immunkompetenten Erwachsenen verursachen sowohl HSV-1 als auch HSV-2 eine Vielzahl von Primärinfektionen, die die Schleimhäute betreffen. Die Syndrome überschneiden sich, wobei jedoch HSV-1 in der Regel Herpes orolabialis verursacht, während HSV-2 Herpes im Genital- und Analbereich verursacht. Beide Syndrome sind durch schmerzhafte, eiternde Bläschen auf Haut und Schleimhäuten der betroffenen Region gekennzeichnet. Nach der Primärinfektion verursachen HSV-1 und HSV-2 eine latente Infektion der sensorischen Ganglien. Die Reaktivierung des latenten Virus führt zu einem mukokutanen Rezidiv. Schwere HSV-1- oder HSV-2-Erkrankungen sind bei immunkompetenten Erwachsenen selten. Es kann jedoch zu schwerwiegenden neurologischen Syndromen wie Bell-Lähmung, Meningitis und Enzephalitis kommen, die mit einer signifikanten Morbidität und Mortalität eingehen sind, wenn sie nicht umgehend behandelt werden. Bei immungeschwächten Patienten mit einer HSV-Erkrankung tritt am häufigsten eines der oben beschriebenen mukokutanen Syndrome infolge der Reaktivierung einer latenten Infektion auf.^{3,4,5}

Bei immungeschwächten Personen besteht außerdem das Risiko einer lokalen Ausbreitung der Krankheit (z. B. HSV-Ösophagitis) und einer disseminierten Infektion. Eine disseminierte HSV-Infektion mit Beteiligung nicht benachbarter viszeraler Organe geht mit einer sehr hohen Sterblichkeit einher, insbesondere bei HSV-Hepatitis.^{3,4,5}

GRUNDSÄTZE DES VERFAHRENS

Für den NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay auf dem NeuMoDx™ System sind der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, die NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators, NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls, der NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 und NeuMoDx™ Reagenzien für den allgemeinen Gebrauch zur Durchführung der Analyse erforderlich. Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay kombiniert automatisierte DNA-Extraktion, Amplifikation und Detektion mittels Real-Time-PCR. Plasmaproben in mit dem NeuMoDx™ System kompatiblen Primär- oder Sekundärröhrchen werden in einen Röhrchenträger gegeben, der dann zur Verarbeitung in das NeuMoDx™ System geladen wird. Es ist kein weiterer Bedieneingriff erforderlich.

Die NeuMoDx™ Systems stützen sich auf eine Kombination aus Wärme, lytischem Enzym und Extraktionsreagenzien zur automatischen Durchführung der Zellyse, DNA-Extraktion und Beseitigung von Inhibitoren. Die freigesetzten Nukleinsäuren werden durch affinitätsmagnetische

Mikrosphären eingefangen. Die Mikrosphären mit den gebundenen Nukleinsäuren werden in die NeuMoDx™ Cartridge geladen, wo die ungebundenen, nicht-DNA-Komponenten mit NeuMoDx™ Wash Reagent weiter abgewaschen werden und die gebundene DNA mit NeuMoDx™ Release Reagent eluiert wird. Die NeuMoDx™ Systems verwenden dann die eluierte DNA zur Rehydrierung der firmeneigenen gefriergetrockneten Amplifikationsreagenzien von SENTINEL CH. S.p.A., die alle für die PCR-Amplifikation der HSV-1/HSV-2-spezifischen Targets und des SPC1-Targets erforderlichen Elemente enthalten. Nach der Rekonstitution der lyophilisierten PCR-Reagenzien gibt das NeuMoDx™ System die vorbereitete PCR-fertige Mischung in NeuMoDx™ Cartridge ab. Amplifikation und Nachweis der Kontroll- und Ziel-DNA-Sequenzen (falls vorhanden) erfolgen in der PCR-Kammer der NeuMoDx™ Cartridge. Die NeuMoDx™ Cartridge ist auch so konzipiert, dass sie das Amplikon nach der Real-Time-PCR enthält, wodurch das Risiko einer Kontamination nach der Amplifikation im Wesentlichen ausgeschlossen wird.

Die genomischen Targets für den NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip sind die US6- und UL45-Gene für das HSV-1-Virus bzw. die US6- und UL30-Gene für das HSV-2-Virus. Die amplifizierten Targets werden in Echtzeit anhand von Hydrolyse-Sonden-Chemie (allgemein als TaqMan® Chemie bezeichnet) nachgewiesen, wobei fluorogene Oligonukleotid-Sondenmoleküle zum Einsatz kommen, die spezifisch für die Amplikons ihrer jeweiligen Targets sind. TaqMan® Sonden bestehen aus einem Fluorophor, das kovalent an das 5'-Ende der Oligonukleotidsonde gebunden ist, und einem Quencher am 3'-Ende. Während die Sonde intakt ist, befinden sich das Fluorophor und der Quencher in der Nähe, was dazu führt, dass das Quencher-molekül die Fluoreszenz des Fluorophors durch Förster-Resonanzenergietransfer (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) unterdrückt. TaqMan® Sonden sind so konzipiert, dass sie innerhalb einer DNA-Region, die durch einen spezifischen Satz von Primern amplifiziert ist, anlagern. Während die Taq-DNA-Polymerase den Primer verlängert und den neuen Strang synthetisiert, sorgt die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-DNA-Polymerase für den Abbau der Sonde, die sich an das Template angelagert hat. Der Abbau der Sonde setzt das Fluorophor frei und der Abstand zum Quencher wird größer. Dadurch wird der Löscheffekt durch FRET aufgehoben und das Fluorophor kann nachgewiesen werden. Die Intensität des resultierenden Fluoreszenzsignals, das im quantitativen RT-PCR-Thermocycler des NeuMoDx™ System nachgewiesen wird, ist direkt proportional zum freigesetzten Fluorophor und kann zur Menge der vorhandenen Ziel-DNA in Beziehung gesetzt werden.⁶

Für den Nachweis von HSV-1-DNA, HSV-2-DNA und SPC1-DNA werden TaqMan® Sonden verwendet, die am 5'-Ende mit Fluorophoren und am 3'-Ende mit Quenchern markiert sind. Die Software des NeuMoDx™ Systems überwacht das von den TaqMan® Sonden am Ende jedes Amplifikationszyklus emittierte Fluoreszenzsignal. Nach Abschluss der Amplifikation analysiert die NeuMoDx™ System Software die Daten und gibt ein Ergebnis aus (POSITIVE (POSITIV) / NEGATIVE (NEGATIV) / INDETERMINATE (UNBESTIMMT) / UNRESOLVED (OFFEN) / NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)). Wenn ein Ergebnis positiv ist und die berechnete Konzentration innerhalb der Quantifizierungsgrenzen liegt, liefert die NeuMoDx™ System Software auch einen quantitativen Wert für die Probe oder weist darauf hin, wenn die berechnete Konzentration außerhalb des linearen Bereichs liegt.

REAGENZEN/VERBRAUCHSMATERIALIEN

Im Lieferumfang enthaltene Materialien

REF	Inhalt	Tests pro Einheit	Tests pro Packung
202400	NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip Gefriergetrocknete PCR-Reagenzien mit HSV-1-spezifischen TaqMan® Sonden und Primern, HSV-2-spezifischen TaqMan® Sonden und Primern sowie SPC1-spezifischen TaqMan® Sonden und Primern.	16	96

Zusätzlich erforderliche Reagenzien und Verbrauchsmaterialien (separat von NeuMoDx erhältlich)

REF	Inhalt
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate Getrocknete paramagnetische Partikel, lytisches Enzym und Probenprozesskontrollen.
800900	NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators Einweg-Sets aus HSV-1 und HSV-2 High und Low getrockneten Kalibratoren zur Erstellung einer Standardkurve.
900901	NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls Einweg-Sets aus getrockneten HSV-1- und HSV-2-Positiv- und Negativkontrollen zur Feststellung der täglichen Gültigkeit des NeuMoDx™ HSV-1/2 Quant Assay
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Hamilton CO-RE Tips (300 µL) mit Filter
235905	Hamilton CO-RE Tips (1000 µL) mit Filter

Einzelheiten zu den Reagenzien und Verbrauchsmaterialien entnehmen Sie bitte der entsprechenden Produktbeilage

Erforderliche Geräte

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) oder NeuMoDx™ 96 Molecular System (REF 500200).

NeuMoDx System Software Version 1.9.2.6 oder höher.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip ist nur zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik auf NeuMoDx™ Systems bestimmt.
- Lesen Sie vor der Durchführung des Tests alle in der Packungsbeilage des Kits enthaltenen Anweisungen.
- Verwenden Sie die Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien nicht nach Ablauf des angegebenen Verfallsdatums.
- Verwenden Sie die Reagenzien nicht, wenn das Sicherheitsiegel aufgebrochen oder die Verpackung bei der Entgegennahme beschädigt ist.
- Verwenden Sie die Verbrauchsmaterialien oder Reagenzien nicht, wenn der Schutzbeutel bei der Entgegennahme geöffnet oder zerrissen ist.
- Mischen Sie keine Reagenzien zur Amplifikation aus anderen handelsüblichen Kits.
- Bewahren Sie alle NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips vor Licht und Feuchtigkeit geschützt in ihren Aluminiumbeuteln auf.
- Eine gültige Testkalibrierung durch die Verarbeitung von High und Low Kalibratoren aus den NeuMoDx™ HSV-1/2 Calibrators (REF 800900) muss verfügbar sein, bevor Testergebnisse für klinische Proben generiert werden können.
- Die NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls (REF 900901) müssen während der gesamten Analyse mit dem NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip alle 24 Stunden ausgeführt werden.
- Das Mindestprobenvolumen ist abhängig von der Röhrchengröße, dem Probenträger und dem Probenvolumen, wie unten angegeben. Volumina unterhalb des angegebenen Minimums können zu dem Fehler „Quantity Not Sufficient“ (Menge nicht ausreichend) führen.
- Die Verwendung von Proben, die bei ungeeigneten Temperaturen oder über die angegebenen Lagerzeiten hinaus aufbewahrt wurden, kann zu ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Eine Kontamination von Reagenzien und Verbrauchsmaterialien mit Mikroben und Desoxyribonuklease (DNase) ist zu vermeiden. Bei Verwendung von Sekundärrohrröhrchen wird die Verwendung von sterilen DNase-freien Einweg-Transferpipetten empfohlen. Verwenden Sie für jede Probe eine neue Pipette.
- Um eine Kontamination zu vermeiden, sollten Sie nach der Amplifikation keine NeuMoDx™ Cartridge anfassen oder auseinanderbrechen. Unter keinen Umständen dürfen NeuMoDx™ Cartridges aus dem Behälter für biologische Gefahrstoffe (NeuMoDx™ 288 Molecular System) oder dem Eimer für biologische Gefahrstoffe (NeuMoDx™ 96 Molecular System) genommen werden. Die NeuMoDx™ Cartridge ist so konzipiert, dass eine Kontamination verhindert wird.
- Wenn das Labor auch PCR-Tests mit offenen Röhrchen ausführt, muss unbedingt gewährleistet werden, dass der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, die für die Tests zusätzlich benötigten Verbrauchsmaterialien und Reagenzien, persönliche Schutzausrüstung wie Handschuhe und Laborkittel sowie das NeuMoDx™ System nicht kontaminiert werden.
- Beim Umgang mit den NeuMoDx™ Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sind saubere, puderfreie Nitrilhandschuhe zu tragen. Es ist darauf zu achten, dass die Oberseite der NeuMoDx™ Cartridge, die Oberfläche der Versiegelungsfolie des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip oder der NeuMoDx™ Extraction Plate oder die Oberseiten von Behältern mit NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 nicht berührt werden; die Verbrauchsmaterialien und Reagenzien dürfen ausschließlich an den Seitenflächen angefasst werden.
- Für jedes Reagenz werden unter www.neumodx.com/client-resources Sicherheitsdatenblätter (SDB) zur Verfügung gestellt (soweit zutreffend).
- Ein senkrechter Balken am Textrand kennzeichnet Änderungen im Vergleich zur vorherigen Version der Packungsbeilage.
- Waschen Sie sich nach der Durchführung des Tests gründlich die Hände.
- Nicht mit dem Mund pipettieren. In Bereichen, in denen Proben oder Reagenzien gehandhabt werden, nicht rauchen, trinken oder essen.
- Handhaben Sie Proben stets als potenziell infektiös und nach den Verfahren für Laborsicherheit gemäß OSHA Standard on Bloodborne Pathogens⁷. Biosafety Level 2⁸ oder andere geeignete Verfahren zur biologischen Sicherheit^{9,10} sollten für Materialien befolgt werden, die ein Infektionsrisiko darstellen oder bei denen der Verdacht auf ein solches Risiko besteht.
- Entsorgen Sie unbenutzte Reagenzien und Abfälle gemäß den landes- und bundesweiten sowie örtlichen Vorschriften. Beachten Sie die Empfehlungen im Sicherheitsdatenblatt (SDS).

PRODUKTLAGERUNG, HANDHABUNG UND STABILITÄT

- NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips sind in der Primärverpackung bei 15 bis 30°C bis zum auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.
- Ein in das NeuMoDx™ System geladener NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip ist 32 Tage lang stabil; die Software des NeuMoDx™ System fordert dazu auf, Teststreifen, die länger als 32 Tage im NeuMoDx™ System in Gebrauch waren, zu entfernen und neue NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips zu öffnen (die Streifen aus dem Beutel entnehmen) und in das NeuMoDx™ System zu laden. Entfernen Sie während des Ladens in den Teststreifenträger nicht die Aluminiumfolie vom Streifen.
- Die NeuMoDx™ HSV1/2 Kalibratoren und Kontrollen sind nicht infektiös, sollten jedoch nach Gebrauch als biologische Gefahrstoffe entsorgt werden, da sie nach der Verarbeitung auf dem System Zielmaterial enthalten, das bei unsachgemäßer Handhabung eine Kontamination verursachen kann.

PROBENTNAHME, TRANSPORT UND LAGERUNG

1. Behandeln Sie alle Proben als potenziell infektiös.
2. Vollblut- oder Plasmaproben in Primärrohrröhrchen nicht einfrieren.
3. Zur Vorbereitung von Plasmaproben sollte Vollblut in sterilen Röhrchen unter Verwendung von EDTA als Gerinnungshemmer gesammelt werden. Die Anweisungen des Herstellers der Probenentnahmeröhrchen sind zu befolgen.

4. Vollblut, das mit den oben aufgeführten Vorrichtungen entnommen wurde, kann vor der Plasmapräparation bis zu 24 Stunden bei 2 °C bis 8 °C gelagert und/oder transportiert werden. Die Probenvorbereitung sollte gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt werden.
5. Präpariertes Plasma kann vor der Verarbeitung bis zu 24 Stunden auf dem NeuMoDx[™] System gelagert werden. Falls eine zusätzliche Lagerzeit erforderlich ist, wird empfohlen, die Proben entweder gekühlt oder eingefroren zu lagern.
6. Präparierte Plasmaproben sollten vor dem Test nicht länger als 8 Tage bei 2 bis 8 °C und maximal 24 Stunden bei Raumtemperatur gelagert werden.
7. Präparierte Proben können bei < -20 °C bis zu 8 Wochen vor der Verarbeitung gelagert werden; die Proben sollten vor der Verwendung nicht mehr als 2 Einfrier-/Auftauzyklen unterzogen werden:
 - a. Eingefrorene Proben bei Raumtemperatur (15 - 30 °C) vollständig auftauen lassen; vortexen, um eine gleichmäßig verteilte Probe zu erzeugen.
 - b. Sobald die eingefrorenen Proben aufgetaut sind, sollten die Tests innerhalb von 24 Stunden durchgeführt werden.
8. Wenn Proben verschickt werden, sollten sie gemäß den geltenden nationalen und/oder internationalen Vorschriften verpackt und beschriftet werden.
9. Beschriften Sie die Proben deutlich und weisen Sie darauf hin, dass die Proben für HSV-1- und/oder HSV-2-Tests bestimmt sind.
10. Fahren Sie mit dem Abschnitt *Testvorbereitung* fort.

Der Gesamt Ablauf des NeuMoDx[™] HSV 1/2 Quant Assay ist in *Abbildung 1* zusammengefasst.

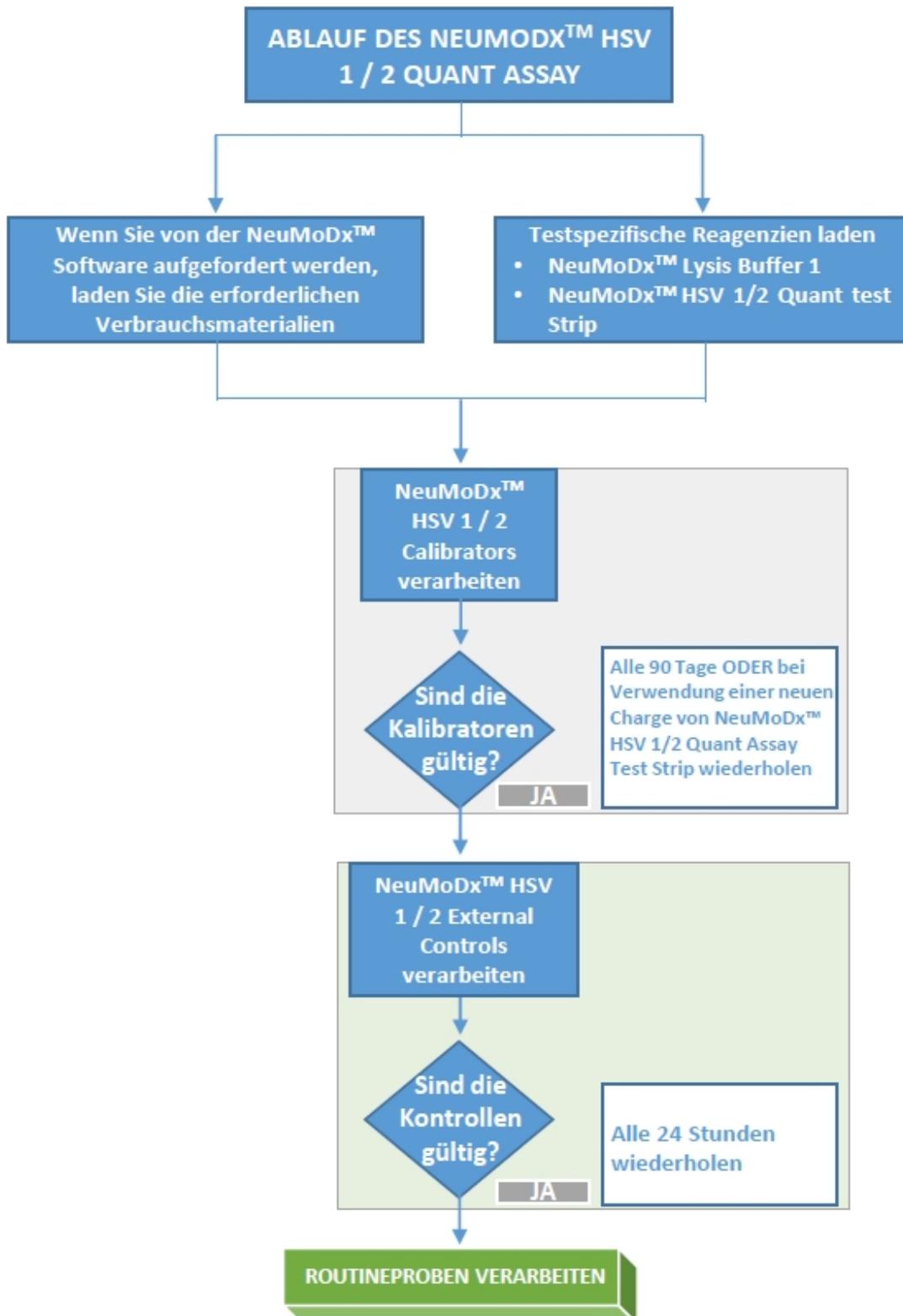


Abbildung 1: Arbeitsablauf des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Testvorbereitung

Bei Plasmaproben kann der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay direkt mit Primärröhrchen oder Probenaliquoten in Sekundärröhrchen durchgeführt werden.

1. Bringen Sie ein Strichcode-Etikett auf einem Probenröhrchen an, das mit dem NeuMoDx™ System kompatibel ist. Das Primärröhrchen kann beschriftet und nach der Zentrifugation gemäß den Anweisungen des Herstellers direkt in einen geeigneten Röhrchenträger eingesetzt werden.
2. Wenn Sie die Plasmaprobe im Primärröhrchen testen, setzen Sie das mit einem Barcode versehene Röhrchen in einen Röhrchenträger ein und stellen Sie sicher, dass die Kappe vor dem Laden in das NeuMoDx™ System entfernt wird. Die Mindestvolumina über der Gel-/Buffy-Schicht sind unten definiert und sind gegeben, wenn die Proben gemäß den Anweisungen des Röhrchenherstellers entnommen und verarbeitet werden. Für Proben, die unsachgemäß entnommen werden, wird die Leistung nicht garantiert.
3. Bei Plasmaproben in einem Sekundärröhrchen übertragen Sie ein Aliquot der Probe in das mit dem Barcode versehene und mit dem NeuMoDx™ System kompatible Röhrchen gemäß den unten definierten Volumina:

Röhrchenträger	Röhrchengröße	Erforderliches Mindestprobenvolumen
Röhrchenträger mit 32 Positionen	11–14 mm Durchmesser mit 60–120 mm Höhe	750 µL
Röhrchenträger mit 24 Positionen	14.5–18 mm Durchmesser mit 60–120 mm Höhe	1100 µL
Röhrchenträger für kleinvolumige Proben	1.5 mL Mikrozentrifugenröhrchen mit konischem Boden	650 µL

Betrieb des NeuMoDx™ System

Ausführliche Anweisungen finden Sie in den Benutzerhandbüchern für die NeuMoDx™ 288 und 96 Molecular Systems (P/N 40600108 & 40600317)

1. Den Testauftrag entsprechend dem gewünschten Röhrchentyp in das NeuMoDx™ System laden.
2. Die Aluminiumbeutel des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip an der durch die seitlichen Kerben gekennzeichneten Stelle aufschneiden.
3. Die Streifen erst unmittelbar vor dem Gebrauch aus den Beuteln nehmen.
4. Vor der Verwendung stets sicherstellen, dass der Beutel gut verschlossen ist und das Tütchen mit dem Trocknungsmittel enthält. Nur unbeschädigte Beutel verwenden.
5. Die Aluminiumbeutel und ihren Inhalt entsorgen, wenn sich die Farbe des Trockenmittelpäckchens von Orange zu Grün ändert.
6. Bestücken Sie einen oder mehrere NeuMoDx™ System Test Strip Träger mit NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip(s) und laden Sie die Teststreifenträger über den Touchscreen in das NeuMoDx™ System.
7. Wenn Sie von der Software des NeuMoDx™ System dazu aufgefordert werden, geben Sie die erforderlichen Verbrauchsmaterialien in die entsprechenden Träger des NeuMoDx™ System und laden den/die Träger über den Touchscreen in das NeuMoDx™ System.
8. Wenn Sie von der Software des NeuMoDx™ System dazu aufgefordert werden, ersetzen Sie das NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, leeren Sie den Behälter für Priming-Abfall, Behälter für biologische Gefahrstoffe (nur NeuMoDx 288 Molecular System), den Spitzenabfalleimer (nur NeuMoDx™ 96 Molecular System) bzw. den Eimer für biologische Gefahrstoffe (nur NeuMoDx™ 96 Molecular System).
9. Wenn Sie von der NeuMoDx™ System Software dazu aufgefordert werden, verarbeiten Sie die Kalibratoren (REF 800900) und/oder externen Kontrollen (REF 900901) wie erforderlich. Weitere Informationen zu Kalibratoren und Kontrollen finden Sie im Abschnitt *Ergebnisse*.
10. Laden Sie die Kalibrator-/Kontrollröhrchen in einen Standard-Röhrchenträger mit 32 Positionen und stellen Sie sicher, dass von allen Röhrchen die Kappen entfernt werden.
11. Setzen Sie den/die Röhrchenträger auf den Autoloader und verwenden Sie den Touchscreen, um den/die Träger in das NeuMoDx™ System zu laden. Dadurch wird die Verarbeitung der geladenen Proben für den/die identifizierten Test(s) gestartet, sofern ein gültiger Testauftrag im System vorhanden ist.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip kann nur auf NeuMoDx™ Systems verwendet werden.
- Die Leistung des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip wurde für Plasmaproben aus Vollblut, die mit EDTA als Antikoagulans entnommen wurden, validiert. Die Verwendung des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip mit anderen Probentypen wurde nicht untersucht und die Leistungsdaten des Tests sind für andere Probentypen nicht bekannt.
- Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay darf nicht mit Proben aus heparinisierem Blut verwendet werden.
- Da der Nachweis von HSV-1- und/oder HSV-2-DNA von der Anzahl der in der Probe vorhandenen Organismen abhängt, sind zuverlässige Ergebnisse von einer ordnungsgemäßen Probenentnahme, Handhabung und Lagerung abhängig.
- Fehlerhafte Ergebnisse können durch unsachgemäße Probenentnahme, Handhabung, Lagerung, technische Fehler oder Verwechslung der Probenröhrchen entstehen. Darüber hinaus können falsch-negative Ergebnisse auftreten, weil die Anzahl der Viruspartikel in der Probe unter der Nachweisgrenze des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay liegt.
- Das NeuMoDx™ System darf ausschließlich von Personal bedient werden, das entsprechend in der Verwendung des NeuMoDx™ System geschult wurde.
- Wenn sowohl das HSV-1, HSV-2- als auch das SPC1-Target nicht amplifizieren, wird ein ungültiges Ergebnis (Indeterminate (Unbestimmt) oder Unresolved (Offen)) gemeldet und der Test sollte wiederholt werden.
- Tritt ein Systemfehler auf, bevor die Probenverarbeitung abgeschlossen ist, wird „No Result“ (Kein Ergebnis) gemeldet und der Test sollte wiederholt werden.
- Wenn das Ergebnis des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay positiv ist, aber der Bestimmungswert über außerhalb der Bestimmungsgrenzen liegt, zeigt das NeuMoDx™ System an, ob die nachgewiesene HSV-1- und/oder HSV-2-DNA unter der unteren Bestimmungsgrenze (LLOQ) oder über der oberen Bestimmungsgrenze (ULOQ) liegt.
- Falls die nachgewiesene HSV-1- und/oder HSV-2-DNA über der ULOQ liegt, kann der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay auf Wunsch mit einem verdünnten Aliquot der ursprünglichen Probe wiederholt werden. Eine Verdünnung im Verhältnis 1:100 oder 1:1000 in HSV-1- und HSV-2 DNA-negativem Plasma oder Basematrix 53 Verdünnungsmittel (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) wird empfohlen. Das System berechnet automatisch die Konzentration der Ausgangsprobe wie folgt: Konzentration der Ausgangsprobe = \log_{10} (Verdünnungsfaktor) + gemeldete Konzentration der verdünnten Probe, sofern der Verdünnungsfaktor vor der Wiederholung in der Software richtig ausgewählt wurde.
- Das gelegentliche Vorhandensein von PCR-Inhibitoren in Plasma kann zu einem Quantifizierungsfehler des Systems führen; in diesem Fall wird empfohlen, den Test mit der gleichen, in Basematrix 1:100 oder 1:100 verdünnten Probe zu wiederholen.
- Ein positives Ergebnis bedeutet nicht unbedingt, dass lebensfähige Organismen vorhanden sind. Ein positives Ergebnis weist jedoch auf das Vorhandensein von HSV-1- und/oder HSV-2-DNA hin.
- Deletionen oder Mutationen in den konservierten Regionen, auf die der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay abzielt, können den Nachweis beeinträchtigen oder zu einem fehlerhaften Ergebnis beim NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip führen.
- Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay sollten zusätzlich zu klinischen Beobachtungen und sonstigen Informationen, die dem Arzt zur Verfügung stehen, herangezogen werden; der Test ist nicht zur Diagnose einer Infektion gedacht.
- Um eine Kontamination zu vermeiden, wird eine gute Laborpraxis empfohlen, wie etwa das Wechseln der Handschuhe beim Umgang mit Proben verschiedener Patienten.

ERGEBNISSE

Die verfügbaren Testergebnisse können in der Registerkarte „Results“ (Ergebnisse) im Fenster „Results“ (Ergebnisse) auf dem Touchscreen des NeuMoDx™ System angezeigt oder ausgedruckt werden. Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay werden automatisch von der NeuMoDx™ System anhand des Entscheidungsalgorithmus und der Ergebnisverarbeitungsparameter, die in der NeuMoDx™ HSV 1/2 Assay Definitionsdatei (HSV1/2 ADF Version 4.0.0) festgelegt sind, generiert. Ein Testergebnis des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay wird auf der Grundlage des Amplifikationsstatus der Zielsequenz und der Probenprozesskontrolle als Negativ, Positiv mit einer angegebenen HSV-1- und/oder HSV-2-Konzentration, Positiv über ULOQ, Positiv unter LLOQ, Unbestimmt (IND), Offen (UNR) oder Kein Ergebnis (NR) ausgegeben. Die Ergebnisse werden auf der Grundlage des ADF-Ergebnisverarbeitungsalgorithmus ausgegeben, wie unten in Tabelle 1 zusammengefasst.

Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip sollten in Verbindung mit anderen klinischen und Laborbefunden ausgewertet werden.

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisauswertung des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Ergebnis	HSV-1/HSV-2	Probenprozesskontrolle (SPC1)	Ergebnisauswertung
Positiv mit einer gemeldeten Konzentration	Amplifiziert $2.05 \leq [\text{HSV-1}] \leq 6.0 \log_{10}$ Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HSV-1-DNA im quantitativen Bereich nachgewiesen
	Amplifiziert $1.78 \leq [\text{HSV-2}] \leq 6.0 \log_{10}$ Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HSV-2-DNA im quantitativen Bereich nachgewiesen

Ergebnis	HSV-1/HSV-2	Probenprozesskontrolle (SPC1)	Ergebnisauswertung
Positiv, über der oberen Bestimmungsgrenze (ULoQ)	Amplifiziert [HSV-1] > 6.0 log ₁₀ Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HSV-1-DNA über dem quantitativen Bereich nachgewiesen
	Amplifiziert [HSV-2] > 6.0 log ₁₀ Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HSV-2-DNA über dem quantitativen Bereich nachgewiesen
Positiv, unter der unteren Bestimmungsgrenze (ULoQ)	Amplifiziert [HSV-1] < 2.05 log ₁₀ Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HSV-1-DNA unter dem quantitativen Bereich nachgewiesen
	Amplifiziert [HSV-2] < 1.78 log ₁₀ Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HSV-2-DNA unter dem quantitativen Bereich nachgewiesen
Negativ*	Nicht amplifiziert	Amplifiziert	HSV-1-/ HSV-2-DNA nicht nachgewiesen
Unbestimmt	Nicht amplifiziert, Systemfehler erkannt, Probenverarbeitung abgeschlossen		Alle Zielergebnisse waren ungültig; Wiederholungstest †
Kein Ergebnis	Nicht amplifiziert, Systemfehler erkannt, Probenverarbeitung abgebrochen		Probenverarbeitung abgebrochen
Ungelöst	Nicht amplifiziert, Kein Systemfehler erkannt		Alle Zielergebnisse waren ungültig; Wiederholungstest †

*Wie bei anderen Tests schließen negative Ergebnisse eine Infektion mit HSV-1- und/oder HSV-2 nicht aus.

†Das NeuMoDx™ System ist mit einer automatischen Funktion für Rerun/Repeat (Wiederholungsläufe) ausgestattet, die der Endbenutzer wählen kann, damit als IND/NR/UNR (Unbestimmt/Keine Ergebnisse/Offen) gemeldete Proben automatisch erneut verarbeitet und Verzögerungen bei der Ergebnismeldung vermieden werden.

Testberechnung

- Für Proben innerhalb des Quantifizierungsbereichs des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay wird die Konzentration der HSV-1-DNA und HSV-2-DNA in den Proben anhand der gespeicherten Standardkurve in Verbindung mit dem Kalibrierkoeffizienten berechnet.
 - Ein Kalibrierkoeffizient wird auf der Grundlage der Ergebnisse der NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators berechnet, die zur Feststellung der Gültigkeit der Standardkurve für eine bestimmte Charge des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip auf einem bestimmten NeuMoDx™ System für jedes Ziel verarbeitet wurden.
 - Der Kalibrierkoeffizient wird in die endgültige Bestimmung der Konzentration der HSV-1-DNA und HSV-2 DNA einbezogen.
- Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay werden in Log₁₀ Kopien/mL und Kopien/mL angegeben.
- Die daraus resultierende Quantifizierung der unbekanntenen Proben ist auf das EDX HSV-1-Verifizierungspanel und das HSV-2-Verifizierungspanel (Exact Diagnostics) rückführbar, die beide durch Droplet-Digital-PCR (ddPCR) quantifiziert werden.

Testkalibrierung

Zur Quantifizierung der HSV-1-DNA und HSV-2-DNA in den Proben ist eine gültige Kalibrierung auf der Grundlage der Standardkurve erforderlich. Um gültige Ergebnisse zu erzielen, muss eine Testkalibrierung für HSV-1 und HSV-2 anhand der von NeuMoDx™ Molecular, Inc. bereitgestellten Kalibratoren durchgeführt werden.

Kalibratoren

- Die NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators werden in einem Kit (REF 800900) geliefert und bestehen aus einem getrockneten Pellet aus synthetischer HSV-1-DNA und HSV-2-DNA sowie einem spezifischen Puffer.
- Ein Set HSV-1/HSV-2-Kalibratoren muss mit jeder neuen Charge von NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips ausgeführt werden, wenn eine neue HSV-1/HSV-2 Assay-Definitionsdatei in das NeuMoDx™ System hochgeladen wird, wenn das aktuelle Kalibratorset die Gültigkeitsdauer (derzeit auf 90 Tage festgelegt) überschritten hat oder wenn die Software des NeuMoDx™ Systems geändert wird.
- Die Software des NeuMoDx™ System benachrichtigt den Benutzer, wenn die Kalibratoren ausgeführt werden müssen; eine neue Charge von Teststreifen kann erst dann zum Testen verwendet werden, wenn die Kalibratoren erfolgreich ausgeführt wurden.
- Wenn ein neues Set HSV-1/HSV-2 Kalibratoren ausgeführt werden muss, lesen Sie vor der Durchführung des Tests alle Anweisungen in der Packungsbeilage der NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators.
- Die Gültigkeit der Kalibrierung wird wie folgt festgelegt:
 - Es müssen zwei Kalibrierkoeffizienten generiert werden, einer für HSV-1 und einer für HSV-2, indem ein Set aus zwei Kalibratoren für jedes Ziel - High und Low - ausgeführt wird, um die Gültigkeit für jede Kurve festzulegen.
 - Um gültige Ergebnisse zu erzeugen, müssen mindestens 2 der 3 Wiederholungen Ergebnisse innerhalb vordefinierter Parameter liefern. Der nominale Zielwert für Low Kalibratoren beträgt 3.12 log₁₀ Kopien/mL und der nominale Zielwert für High Kalibratoren beträgt 5.12 log₁₀ Kopien/mL für die beiden HSV-1- und HSV-2-Kalibratorsets.

- c. Ein Kalibrierkoeffizient wird berechnet, um die erwartete Variation zwischen Teststreifenchargen zu berücksichtigen; dieser Kalibrierkoeffizient wird bei der Bestimmung der endgültigen HSV-1- und/oder HSV-2-Konzentration verwendet.
6. Wenn einer oder beide Kalibratoren die Gültigkeitsprüfung nicht bestehen, wiederholen Sie die Verarbeitung des/der fehlgeschlagenen Kalibrators/Kalibratoren mit einem neuen Fläschchen. Wenn ein Kalibrator die Gültigkeitsprüfung nicht besteht, ist es möglich, nur den fehlgeschlagenen Kalibrator zu wiederholen, da das System nicht verlangt, dass beide Kalibratoren erneut ausgeführt werden müssen.
7. Wenn der/die Kalibrator(en) die Gültigkeitsprüfung ein zweites Mal in Folge nicht bestehen, wenden Sie sich an den technischen Support von QIAGEN.

Qualitätskontrolle

Örtliche Vorschriften schreiben in der Regel vor, dass das Labor für Kontrollverfahren verantwortlich ist, die die Genauigkeit und Präzision des gesamten Analyseprozesses überwachen, und dass es die Anzahl, Art und Häufigkeit der Tests von Kontrollmaterialien anhand verifizierter Leistungsspezifikationen für ein unmodifiziertes, zugelassenes Testsystem festlegen muss.

Externe Kontrollen:

1. Externe Kontrollen für HSV-1 und HSV-2 (REF 900901) werden von NeuMoDx™ bereitgestellt. Die Positivkontrollen enthalten ein getrocknetes Pellet mit synthetischer HSV-1- und HSV-2-DNA. Die Negativkontrolle ist Puffer.
2. Die externen Positiv- und Negativkontrollen müssen einmal alle 24 Stunden verarbeitet werden. Wenn kein Set gültiger externer Kontrollen vorhanden ist, fordert die Software des NeuMoDx™ Systems zur Verarbeitung solcher Kontrollen auf, bevor die Probenergebnisse ausgegeben werden.
3. Wenn externe Kontrollen erforderlich sind, bereiten Sie die Positiv- und Negativkontrollen wie in der Packungsbeilage der HSV 1/2 External Controls angegeben vor, bevor Sie den Test durchführen.
4. Laden Sie die die Positiv- und Negativkontrollen über den Touchscreen und mit einem Röhrchenträger, der sich auf dem Autoloader befindet, in das NeuMoDx™ System. Das NeuMoDx™ System erkennt die Strichcodes und beginnt mit der Verarbeitung der externen Kontrollen, es sei denn, die für den Test erforderlichen Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien sind nicht verfügbar.
5. Die Gültigkeit der externen Kontrollen wird vom NeuMoDx™ System auf der Grundlage der erwarteten Ergebnisse bewertet. Die Positivkontrolle sollte ein HSV-1- und HSV-2-positives Ergebnis und die Negativkontrolle ein HSV-1- und HSV-2-negatives Ergebnis liefern.
6. Bei abweichenden Ergebnissen der externen Kontrollen sollte wie folgt verfahren werden:
 - a. Ein positives Testergebnis bei einer negativen Kontrollprobe deutet auf ein Kontaminationsproblem der Probe hin und die Qualitätskontrollverfahren des Labors müssen untersucht werden, um die Ursache zu finden. Achten Sie darauf, dass für die Probenvorbereitung, die Handhabung der Kontrollen und die Einrichtung der Real-Time-PCR getrennte Bereiche zur Verfügung stehen. Siehe Bedienerhandbuch des *NeuMoDx 288* oder *96 Molecular System* für weitere Tipps zur Fehlersuche.
 - b. Ein negatives Testergebnis bei einer positiven Kontrollprobe kann auf ein reagenz- oder gerätebedingtes Problem hinweisen.
 - c. In einem der oben genannten Fälle oder im Falle von Kein Ergebnis (NR), Offen (UNR) oder Unbestimmt (IND) wiederholen Sie die fehlgeschlagene(n) externe(n) NeuMoDx™ Kontrolle(n) mit einem neuen, frisch zubereiteten Fläschchen der Kontrolle(n), die den Gültigkeitstest nicht bestanden hat/haben.
 - d. Wenn die Positivkontrolle der NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls weiterhin ein negatives Ergebnis liefert, wenden Sie sich bitte an den technischen Support von QIAGEN.
 - e. Wenn die Negativkontrolle der NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls weiterhin ein positives Ergebnis liefert, versuchen Sie zuerst, alle potenziellen Kontaminationsquellen zu eliminieren, einschließlich des Austausches ALLER Reagenzien, und wiederholen Sie den Lauf, bevor Sie den technischen Support von QIAGEN kontaktieren.
7. Wenn die externen Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern, muss ein Set aus Positiv- und Negativkontrollen wiederholt werden. Die Proben werden erst dann verarbeitet, wenn ein gültiges Set externer Kontrollen vom System verarbeitet wird. Für den Fall, dass Proben in Bearbeitung sind, während externe Kontrollen ablaufen, müssen gültige externe Kontrollen ausgeführt werden. Wenn das externe Kontrollset keine gültigen Ergebnisse liefert, werden keine Probenergebnisse ausgegeben.

(Interne) Prozessprobenkontrollen

Eine exogene Probenprozesskontrolle (SPC1) ist in die NeuMoDx™ Extraction Plate integriert und durchläuft mit jeder Probe/Kontrolle/Kalibrator den gesamten Prozess der Nukleinsäureextraktion und Real-Time-PCR-Amplifikation. Primer und Sonden, die für SPC1 spezifisch sind, sind in jedem NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip enthalten, sodass das Vorhandensein von SPC1 zusammen mit der HSV-1- und HSV-2-Zielsequenz (falls vorhanden) mittels Multiplex-Real-Time-PCR nachgewiesen werden kann. Der Nachweis der SPC1-Amplifikation ermöglicht es der Software des NeuMoDx™ System, die Wirksamkeit der DNA-Extraktions- und PCR-Amplifikationsschritte zu überwachen.

Ungültige Ergebnisse

Wenn ein NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, der auf dem NeuMoDx™ System durchgeführt wird, kein gültiges Ergebnis liefert, wird das Ergebnis je nach Art des aufgetretenen Fehlers als Unbestimmt (IND), Kein Ergebnis (NR) oder Offen (UNR) ausgegeben. Der Test sollte wiederholt werden, um ein gültiges Ergebnis zu erhalten.

Das Ergebnis Indeterminate (Unbestimmt) wird ausgegeben, wenn während der Probenverarbeitung ein Fehler beim NeuMoDx™ System festgestellt wird. In diesem Fall wird ein erneuter Test empfohlen.

Das Ergebnis No Result (Kein Ergebnis) wird ausgegeben, wenn während der Probenverarbeitung ein Fehler beim NeuMoDx™ System festgestellt und die Probenverarbeitung abgebrochen wird. In diesem Fall wird ein erneuter Test empfohlen.

Das Ergebnis Unresolved (Offen) wird ausgegeben, wenn kein Ziel detektiert wird und keine Amplifikation von HSV-1-DNA, HSV-2-DNA oder SPC1 stattfindet, was auf ein mögliches Versagen des Reagens oder das Vorhandensein von Inhibitoren hinweist. In diesem Fall kann in einem ersten Schritt ein erneuter Test durchgeführt werden. Schlägt ein Wiederholungstest fehl, kann eine verdünnte Probe verwendet werden, um die Auswirkungen einer Probeninhibition zu mildern (siehe Abschnitt „Einschränkungen“ für weitere Anweisungen).

Siehe Bedienerhandbuch des NeuMoDx 288 Molecular System (PN: 40600108) oder des NeuMoDx 96 Molecular System (PN: 40600317) für eine Liste von Fehlercodes im Zusammenhang mit ungültigen Ergebnissen.

LEISTUNGSDATEN^{11,12,16}

Analytische Sensitivität - Nachweisgrenze¹³

Die analytische Sensitivität des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay wurde durch Testen einer Verdünnungsreihe des EDX HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) und des HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) in HSV-1/HSV-2 negativen Plasmaproben charakterisiert, um die Nachweisgrenze (LoD) auf den NeuMoDx™ Systemen zu bestimmen. Die LoD wurde als der nächstliegende, experimentell bestimmte Zielwert definiert, der über der mittels Probit-Analyse mit 95%-Konfidenzintervall (KI) ermittelten Konzentration liegt. Die Studie wurde über 3 Tage an mehreren Systemen mit mehreren Chargen von NeuMoDx™ Reagenzien durchgeführt. Jedes System verarbeitete 42 Replikate in jeder Verdünnungsstufe (positive Proben) und 8 Replikate für negative Proben pro Tag. Die Nachweisraten sind in *Tabelle 2* und *3* dargestellt.

Tabelle 2: Positive Nachweisraten für die LoD-Bestimmung des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

HSV-1					HSV-2				
Zielkonzentration [Kopien/mL]	Zielkonzentration [\log_{10} Kopien/mL]	Anzahl gültiger Tests	Anzahl Positive	Nachweisrate	Zielkonzentration [Kopien/mL]	Zielkonzentration [\log_{10} Kopien/mL]	Anzahl gültiger Tests	Anzahl Positive	Nachweisrate
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 %

Die LoD des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay wurde mittels Probit-Analyse auf 114 Kopien/mL (2.05 \log_{10} Kopien/mL) (95%-Konfidenzintervall) festgelegt: 93.5 bis 133.7 Kopien/mL für HSV-1 und 56 Kopien/mL (1.75 \log_{10} Kopien/mL) (95%-Konfidenzintervall: 44.7 bis 66.2 Kopien/mL) für HSV-2.

Die LoD-Konzentration (114 Kopien/mL) von HSV-1 wurde mittels Hit-Rate-Analyse von Isolaten aus verschiedenen geografischen Gebieten bestätigt: Asien, Europa, Afrika und Nordamerika (*Tabelle 3*).

Tabelle 3: Hit-Rate-Analyse bei verschiedenen geografischen HSV-1-Isolaten zur Bestätigung der unteren Nachweisgrenze. Getestetes Konzentrationsniveau: 114 Kopien/mL.

Geografisches Gebiet	Gültige Tests	Nachgewiesene Proben	Nachweisrate
Nordamerika	24	24	100
Europa	24	24	100
Asien	24	24	100
Afrika	24	24	100

Analytische Sensitivität - Untere Bestimmungsgrenze (LLoQ) und obere Bestimmungsgrenze (ULoQ)¹³

Die untere Bestimmungsgrenze (LLoQ) und die obere Bestimmungsgrenze (ULoQ) sind definiert als die niedrigste Zielkonzentration und die obere Zielkonzentration, bei der eine >95%ige Detektion erreicht wird UND der TAE ≤ 1.0 ist. Um die LLoQ und ULoQ zu bestimmen, wurde der analytische Gesamtfehler (TAE) für jede der HSV-1- und HSV-2 Zielkonzentrationen berechnet, bei denen nachweislich eine >95%ige Detektion erreicht wird. Der TAE ist wie folgt definiert:

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

Der Bias ist der absolute Wert der Differenz zwischen dem Mittelwert der berechneten Konzentration und der erwarteten Konzentration. SD bezieht sich auf die Standardabweichung des quantitativen Werts der Probe.

Die ermittelten Ergebnisse für die 5 Konzentrationen von HSV-1/HSV-2-Plasmaproben, die in der LLoQ/ULoQ-Studie verwendet wurden, sind in *Tabelle 4* und *5* dargestellt. Auf der Grundlage dieses Datensatzes und der zuvor ermittelten LoD wurden die LLoQ und ULoQ für HSV-1 auf 114 Kopien/mL (2.05 \log_{10} Kopien/mL) und 1.26x10⁶ Kopien/mL (hier näherungsweise 6 \log_{10} Kopien/mL) und für HSV-2 auf 60 Kopien/mL (1.78 \log_{10} Kopien/mL) und 1.19x10⁶ Kopien/mL (hier näherungsweise 6 \log_{10} Kopien/mL) festgelegt.

Tabelle 4: NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; HSV-1 ULoQ und LLoQ, mit Bias und TAE

Zielkonz. [Kopien/mL]	Zielkonz. [log ₁₀ Kopien/mL]	Durchschnittskonz. [log ₁₀ Kopien/mL]	Nachweis (%)	SD	Bias	TAE
1.26x10 ⁶	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

Tabelle 5: NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; HSV-2 ULoQ und LLoQ, mit Bias und TAE

Zielkonz. [Kopien/mL]	Zielkonz. [log ₁₀ Kopien/mL]	Durchschnittskonz. [log ₁₀ Kopien/mL]	Nachweis (%)	SD	Bias	TAE
1.19x10 ⁶	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

Auf der Grundlage der Ergebnisse dieser Studien wurde die LLoQ des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay auf 114 Kopien/mL (2.05 log₁₀ Kopien/mL) für HSV-1 und 60 Kopien/mL (1.78 log₁₀ Kopien/mL) für HSV-2 festgelegt. Die ULoQ für alle Probenotypen beträgt 1.26x10⁶ Kopien/mL (6 log₁₀ Kopien/mL) für HSV-1 und 1.19x10⁶ Kopien/mL (6 log₁₀ Kopien/mL) für HSV-2.

Linearität¹⁴

Die Linearität des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip wurde in Plasma durch die Herstellung einer Verdünnungsreihe mit dem HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) und dem EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) festgelegt. Acht (8) serielle Verdünnungen von HSV-1/HSV-2-Panels, hergestellt in HSV-1/HSV-2-negativem Humanplasma, wurden erstellt, um einen Konzentrationsbereich von 6 - 2 log₁₀ Kopien/mL abzudecken.

Die vom NeuMoDx™ System ausgegebenen HSV-1/HSV-2-Testkonzentrationen im Vergleich zu den erwarteten Werten sind auf den Abbildungen 2 und 3 dargestellt.

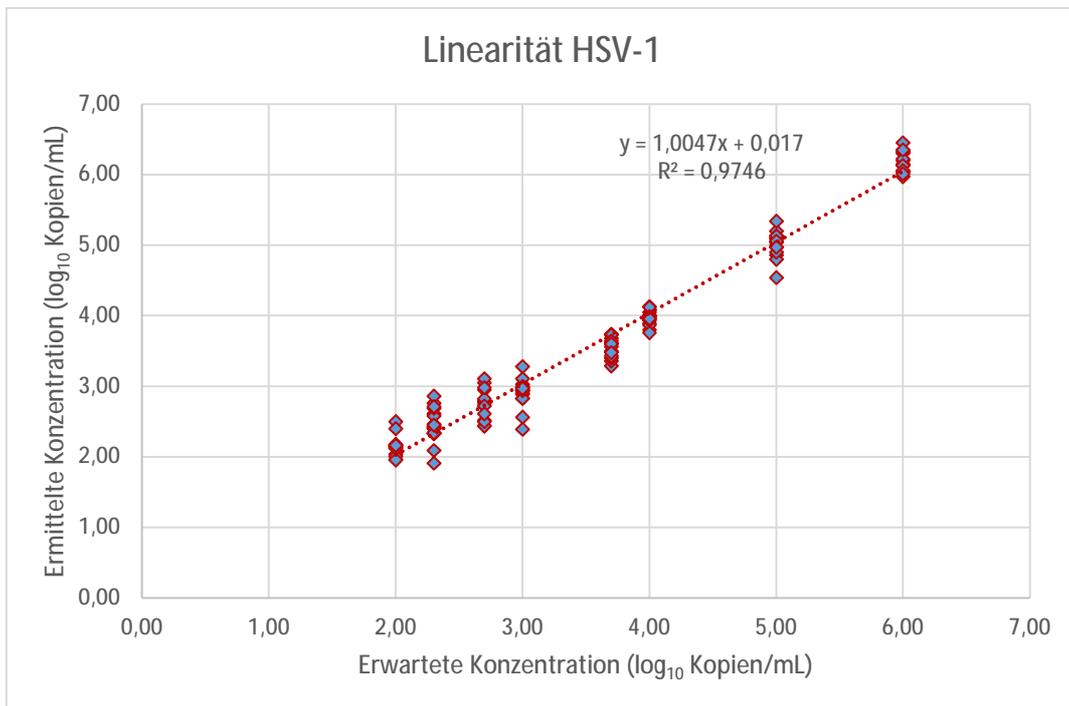


Abbildung 2: Linearität des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay für HSV-1

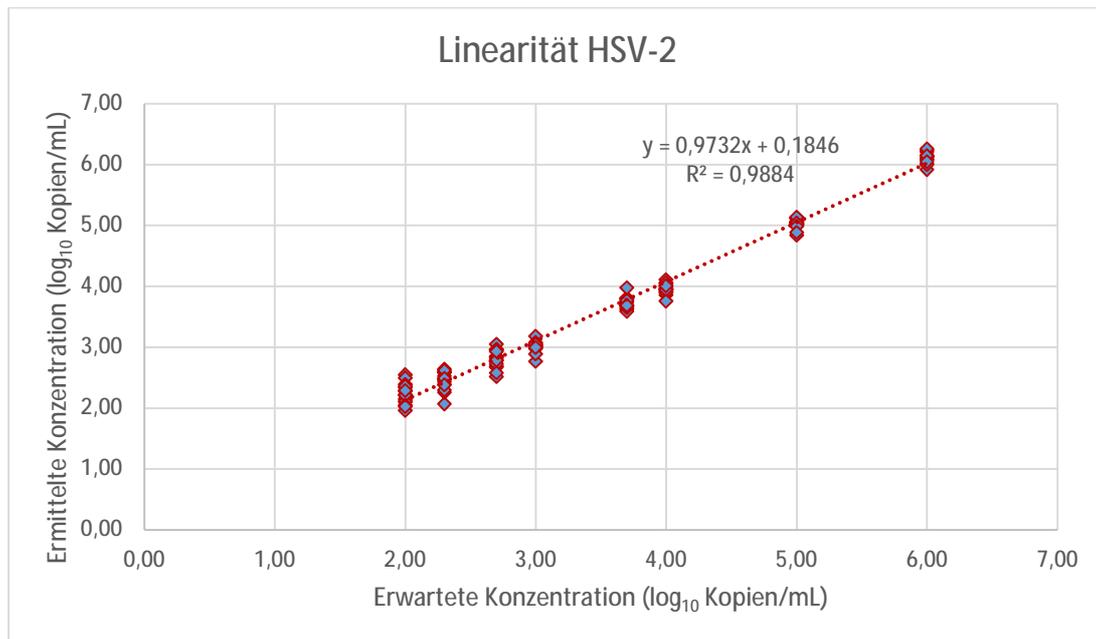


Abbildung 3: Linearität des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay für HSV-2

Analytische Spezifität – Kreuzreaktivität^{11, 12}

Die analytische Spezifität wurde durch Screening von 22 Organismen, die häufig in Plasmaproben vorkommen, sowie von Spezies, die phylogenetisch HSV-1 und HSV-2 ähnlich sind, auf Kreuzreaktivität nachgewiesen. Die Organismen wurden in Pools von 5/6 Organismen präpariert und in hoher Konzentration getestet. Die getesteten Organismen sind in *Tabelle 6* dargestellt. Bei keinem der getesteten Organismen wurde eine Kreuzreaktivität beobachtet, was die 100 %ige analytische Spezifität des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay bestätigt.

Tabelle 6: Zum Nachweis der analytischen Spezifität verwendete Erreger

Nicht-Zielorganismen					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humanes Immundefizienz-Virus 1	Hepatitis-B-Virus	Adenovirus Typ 5	Epstein-Barr-Virus	Varicella-Zoster-Virus	Enterovirus 68
BK-Virus	Humanes Herpesvirus Typ 6	Human Herpesvirus Typ 8	Cytomegalovirus	HHV-7	HTVL-1
HTVL-2	JC-Virus	SV40	Humanes Immundefizienz-Virus 2		

Analytische Spezifität – Störsubstanzen, Kommensalen^{11, 12}

Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay wurde auf Interferenz in Gegenwart von Nicht-Zielorganismen unter Verwendung derselben Organismenpools untersucht, die für die oben in *Tabelle 7* aufgeführten Kreuzreaktivitätstests vorbereitet wurden. Negatives HSV-1/HSV-2-Plasma wurde mit den in Gruppen von 4-7 Organismen gepoolten Organismen versetzt und zudem mit HSV-1/HSV-2 in einer Konzentration von 2.47 log₁₀ Kopien/mL (300 Kopien/mL) versetzt. Es wurden keine signifikanten Interferenzen in Gegenwart dieser Kommensalen beobachtet, wie durch die minimale Abweichung der Quantifizierung von Kontrollproben, die keine Störsubstanzen enthielten, gezeigt wurde.

Analytische Spezifität – Störsubstanzen, endogene und exogene Substanzen^{11, 12}

Der NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay wurde in Gegenwart typischer exogener und endogener Störsubstanzen in klinischem HSV-1/HSV-2-Plasma evaluiert. Dazu gehörten anormal hohe Konzentrationen von Blutbestandteilen sowie übliche Virostatika, die in *Tabelle 8* klassifiziert sind. Jede Substanz wurde zu gescreenter HSV-1/HSV-2-negativer Basematrix 53, die mit 2.47 log₁₀ Kopien/mL (300 Kopien/mL) HSV-1/HSV-2 versetzt wurde, hinzugefügt und die Proben wurden auf Interferenzen analysiert.

Die durchschnittliche Konzentration und der Bias aller getesteten Substanzen im Vergleich zu Kontrollproben, die mit derselben HSV-1/HSV-2-Konzentration versetzt waren, sind in *Tabelle 9* aufgeführt. Keine der exogenen und endogenen Substanzen beeinträchtigte die Spezifität des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Tabelle 7: Interferenzprüfung - Exogene Agenzien (Arzneittelklassifikationen)

Pool	Medikamentenna me	Klassifizierung
Pool 1	Valganciclovir	VIROSTATIKUM
	Prednison	IMMUNSUPPRESSIVUM
	Cidofovir	VIROSTATIKUM
	Cefotaxim	ANTIBIOTIKUM
	Mycophenolat- Mofetil	IMMUNSUPPRESSIVUM
Pool 2	Vancomycin	ANTIBIOTIKUM
	Tacrolimus	IMMUNSUPPRESSIVUM
	Famotidine	HISTAMIN-ANTAGONIST
	Valacyclovir	VIROSTATIKUM
	Leflunomide	IMMUNSUPPRESSIVUM

Tabelle 8: Interferenzprüfung - Exogene und endogene Agenzien

Endogen (Plasma)	HSV-1		HSV-2	
	Durchschnittskonz.	Bias	Durchschnittskonz.	Bias
	log ₁₀ Kopien/mL	log ₁₀ Kopien/mL	log ₁₀ Kopien/mL	log ₁₀ Kopien/mL
Triglyceride (500 mg/dL)	3.04	-0.19	2.51	0.07
Konjugiertes Bilirubin (0.25 g/L)	3.18	-0.18	2.72	0.15
Unkonjugiertes Bilirubin (0.25 g/L)	3.62	-0.27	2.53	0.24
Albumin (58.7 g/L)	2.88	-0.14	1.99	0.01
Hämoglobin (2.9 g/L)	2.8	-0.07	2.69	-0.01
Exogen (Arzneimittel)	Durchschnittskonz.	Bias	Durchschnittskonz.	Bias
	log ₁₀ Kopien/mL	log ₁₀ Kopien/mL	log ₁₀ Kopien/mL	log ₁₀ Kopien/mL
Pool 1: Valganciclovir, Prednison, Cidofovir, Cefotaxim, Mycophenolat-Mofetil	2.16	0.33	2.18	0.35
Pool 2: Vancomycin, Tacrolimus, Famotidin, Valacyclovir, Leflunomid	2.53	0.32	2.44	0.56

Wiederholbarkeit und laborinterne Präzision¹⁵

Die Präzision des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip wurde bestimmt, indem 2 Replikate eines Dreierpanels von HSV-1/ HSV-2-Proben, die zweimal täglich mit HSV-1- oder HSV-2-Plasmid präpariert wurden, mit einem NeuMoDx™ 96 System über 20 Tage getestet wurden. Die Präzision innerhalb der Serie und innerhalb des Tages wurde charakterisiert, und die Gesamtstandardabweichung wurde mit $\leq 0.30 \log_{10}$ Kopien/mL bestimmt. Es wurde eine ausgezeichnete Präzision über Tage und Serien hinweg nachgewiesen, wie in *Tabelle 9* dargestellt. Die Präzision zwischen den Bedienpersonen wurde nicht charakterisiert, da die Bedienperson bei der Verarbeitung der Proben mit dem NeuMoDx™ System keine signifikante Rolle spielt.

Tabelle 9: Laborinterne Präzision - NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay auf NeuMoDx Systemen 96

Probe	SD Wiederholbarkeit (log ₁₀ Kopien/mL)	SD zwischen Serien (log ₁₀ Kopien/mL)	SD innerhalb des Tages (log ₁₀ Kopien/mL)	Zwischen Tagen (log ₁₀ Kopien/mL)	SD insgesamt (innerhalb des Labors) (log ₁₀ Kopien/mL)
HSV-1					
5.5 log ₁₀ Kopien/mL	0.18	0.00	0.18	0.10	0.20
4.5 log ₁₀ Kopien/mL	0.16	0.10	0.19	0.00	0.19
3.0 log ₁₀ Kopien/mL	0.19	0.09	0.21	0.10	0.23
HSV-2					
5.7 log ₁₀ Kopien/mL	0.14	0.05	0.15	0.07	0.16
4.7 log ₁₀ Kopien/mL	0.11	0.00	0.11	0.07	0.13
3.1 log ₁₀ Kopien/mL	0.16	0.13	0.20	0.00	0.20

Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge¹⁵

Die Reproduzierbarkeit zwischen Chargen des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip wurde unter Verwendung von drei verschiedenen Chargen von NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips bestimmt. Ein Viererpanel von HSV-1 und HSV-2, das mit dem HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) oder dem EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) vorbereitet wurde, wurde zur Bewertung der Leistung auf einem NeuMoDx™ 96 Molecular System in fünf separaten Läufen verwendet. Die Variation innerhalb und zwischen Chargen wurde analysiert und die Ergebnisse, als Standardabweichung zwischen Chargen ausgedrückt, sind in Tabelle 10 dargestellt. Die größte Standardabweichung betrug 0.26 log₁₀ Kopien/mL. Es wurde eine gleichwertige Leistung zwischen den Chargen nachgewiesen, da die SD aller Panelemente innerhalb der Toleranzspezifikation lag (SD Reproduzierbarkeit ≤ 0.3 log₁₀ Kopien/mL).

Tabelle 10: Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Probe	SD Wiederholbarkeit (log ₁₀ Kopien/mL)	SD zwischen Tagen (log ₁₀ Kopien/mL)	SD innerhalb der Charge (log ₁₀ Kopien/mL)	SD zwischen Chargen (log ₁₀ Kopien/mL)	SD Reproduzierbarkeit (log ₁₀ Kopien/mL)
HSV-1					
1.26 x10 ⁵ Kopien/mL	0.12	0.22	0.25	0.00	0.25
1.26 x10 ⁴ Kopien/mL	0.16	0.19	0.25	0.00	0.25
300 Kopien/mL	0.18	0.17	0.25	0.00	0.25
HSV-2					
1.26 x10 ⁵ Kopien/mL	0.13	0.12	0.17	0.00	0.18
1.26 x10 ⁴ Kopien/mL	0.77	0.10	0.13	0.00	0.13
300 Kopien/mL	0.21	0.12	0.24	0.00	0.24

Reproduzierbarkeit von Instrument zu Instrument¹⁵

Die Reproduzierbarkeit des NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip zwischen Instrumenten wurde mit drei verschiedenen Systemen (ein NeuMoDx™ 288 Molecular System und zwei NeuMoDx™ 96 Molecular System) bestimmt. Ein Viererpanel von HSV-1/ HSV-2, das mit dem HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) oder dem EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) vorbereitet wurde, wurde zur Bewertung der Leistung verwendet. Die Tests wurden 5 Tage lang auf den Systemen durchgeführt. Die Variation innerhalb eines Tages und zwischen den Systemen wurde charakterisiert, und die Gesamtstandardabweichung wurde mit ≤ 0.30 log₁₀ Kopien bestimmt. Es wurde eine gleichwertige Leistung zwischen den Systemen nachgewiesen, da die SD bei der Quantifizierung aller Panelemente innerhalb der Toleranzspezifikation lag (Tabelle 11).

Tabelle 11: Reproduzierbarkeit von Instrument zu Instrument – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip

Probe	SD Wiederholbarkeit (log10 Kopien/mL)	SD zwischen Tagen (log10 Kopien/mL)	SD innerhalb des Systems (log10 Kopien/mL)	SD zwischen Systemen (log10 Kopien/mL)	SD Reproduzierbarkeit (log10 Kopien/mL)
HSV-1					
1.26 x10 ⁵ Kopien/mL	0.25	0.04	0.26	0.13	0.29
1.26 x10 ⁴ Kopien/mL	0.26	0.08	0.28	0.07	0.28
300 Kopien/mL	0.19	0.08	0.21	0.08	0.23
HSV-2					
1.26 x10 ⁵ Kopien/mL	0.15	0.16	0.22	0.00	0.22
1.26 x10 ⁴ Kopien/mL	0.14	0.18	0.23	0.08	0.24
300 Kopien/mL	0.14	0.20	0.25	0.00	0.25

QUELLENANGABE

- 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.
- 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>
- 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.
- 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.
- 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.
- 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>
- 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.

MARKEN

NeuMoDx™ ist eine Marke von NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® ist eine eingetragene Marke von Roche Molecular Systems, Inc.

Seracare® ist eine eingetragene Marke von Seracare Life Sciences, Inc.

Alle anderen Produktnamen, Warenzeichen und eingetragenen Warenzeichen, die in diesem Dokument erscheinen, sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

SYMBOLS

SYMBOL	BEDEUTUNG
	Rezeptpflichtig
	Hersteller
	Vertrieb
	In-Vitro-Diagnostikum
	Bestellnummer
	Chargenbezeichnung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht, Begleitdokumente konsultieren
	Temperaturbegrenzung
	Vor Feuchtigkeit schützen
	Nicht wiederverwenden
	Vor Licht schützen
	Ausreichend für <n> Tests
	Verwendbar bis



SENTINEL CH. S.p.A.
Via Robert Koch, 2
20152 Mailand, Italien

www.sentinel diagnostics.com



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

+1 888 301 NMDX (6639)
Technischer Support: support.qiagen.com
Vigilanzmeldung: support.qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents