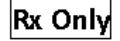




202500 NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

DİKKAT: Yalnızca ABD İhracatı için



NeuMoDx™ 288 ve NeuMoDx™ 96 Molecular System'lar ile *In Vitro* Tanı Amaçlı Kullanım için



Ürün kullanılmadan önce prospektüs dikkatlice okunmalıdır. Prospektüs talimatları uygun şekilde izlenmelidir. Prospektüsteki talimatlardan farklı uygulama durumunda tayin sonuçlarının güvenilirliği garanti edilemez. Ayrıntılı talimatlar için NeuMoDx™ 288 Molecular System Operatör Kılavuzu; P/N 40600108 belgesine başvurun. Ayrıntılı talimatlar için NeuMoDx™ 96 Molecular System Operatör Kılavuzu; P/N 40600317 belgesine başvurun



KULLANIM AMACI

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, bağışıklık yetmezliği olan transplant hastalarından alınan EDTA Plazmadaki İnsan beta herpes virüsü 6A (HHV-6A) DNA'sının ve/veya İnsan beta herpes virüsü 6B (HHV-6B) DNA'sının kantifikasyonu ve birbirinden ayırt edilmesi için otomatik, *in vitro* nükleik asit amplifikasyon testidir^{1,2}.

NeuMoDx™ 288 Molecular System ve NeuMoDx™ 96 Molecular System'da uygulandığı şekilde NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, hedef nükleik asitleri numuneden izole etme amaçlı otomatik DNA ekstraksiyonunu ve HHV-6A ve HHV-6B genomlarındaki iki adet yüksek ölçüde korunmuş bölgeyi hedefleme amaçlı gerçek zamanlı PCR'yi içerir.

Tayin, EDTA plazmada HHV-6A ve/veya HHV-6B DNA seviyelerinin izlenmesinde yardımcı olarak kullanıma amacıyla tasarlanmıştır. Bu tayin, HHV-6A ve/veya HHV-6B enfeksiyonlarının klinik yönetimi ve izlenmesi için hastalık ilerlemesinin klinik tablosu ve diğer laboratuvar belirteçleri ile birlikte kullanıma yöneliktir.

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, kan veya kan ürünlerinde HHV-6A ve/veya HHV-6B DNA'sının varlığına yönelik bir tarama testi olarak kullanıma yönelik değildir.

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, gerçek zamanlı PCR teknikleri ve *in vitro* tanı amaçlı prosedürler ve/veya NeuMoDx™ Molecular System'lar konusunda özel olarak bilgilendirilmiş ve eğitim almış eğitimli klinik laboratuvar personeli tarafından kullanıma yöneliktir. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, kendi kendine teste veya hasta başı bakım ortamında kullanıma yönelik değildir.

ÖZET VE AÇIKLAMA

Plazmanın hazırlanması için, antikoagülasyon ajanı olarak EDTA içeren steril kan toplama tüplerinde veya plazma hazırlama tüplerinde (Plasma Preparation Tubes, PPT) toplanan insan tam kanı kullanılabilir. Testi başlatmak amacıyla NeuMoDx™ System ile uyumlu birincil veya ikincil numune tüpündeki plazma, otomatik işlemeye başlanması için özel bir numune tüp taşıyıcı kullanılarak NeuMoDx System™'a yüklenir.

Plazma numunesinin 550 µl'lik bir alikotu NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 ile karıştırılır ve NeuMoDx™ System, hedef nükleik asitleri ekstrakte etmek, gerçek zamanlı PCR amplifikasyonu için izole DNA'yı hazırlamak ve mevcutsa amplifikasyon ürünlerini amplifiye etmek ve saptamak için gerekli tüm adımları otomatik olarak gerçekleştirir. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, ekstraksiyon ve amplifikasyon işleminde karşılaşılabilecek NeuMoDx™ System veya reaktif hatalarının yanı sıra, potansiyel inhibe edici maddelerin varlığını izlemeye yardımcı olması amacıyla bir DNA Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1) içerir.

İnsan herpes virüsü 6 (HHV-6), Betaherpesvirüs alt ailesinin bir parçasıdır ve HHV-6A ve HHV-6B olmak üzere iki farklı türü bulunur². Merkezi sinir sistemi dokuları, bademcikler, tükürük bezleri, böbrekler, karaciğer, lenf bezleri, endotelial hücreler ve monositler/makrofajlara yönelimi olan bir DNA virüsüdür³. HHV-6 enfeksiyonu ile ilişkili birincil sendrom, egzantema subitum'dur (roseola veya altıncı hastalık)^{1,2,3,4}. Bu neredeyse özel bir çocukluk hastalığıdır ve acil servise getirilen 2 yaş altı çocukların başvuru sebeplerinin %10 ila %30'unu oluşturur¹. Tüm herpes virüslerinde olduğu gibi HHV-6 ilk enfeksiyonun ardından diğer hücrelerin yanı sıra hematopoetik kök hücrelerde ve jerminal hücrelerde yaşam boyu süren latens oluşturabilir ve böylece yatay ve dikey bulaşmaya neden olabilir². Bu olay, genel nüfusun %0,2 ila 1'inde görülmüştür⁴. Bağışıklık sistemi zayıflamış konakçıda latent virüs tekrar aktifleşerek pnömonit, CNS hastalığı ve gecikmiş kemik iliği yamanması veya graft versus host hastalığı (GVHD) dahil ciddi hastalıklara neden olabilir. HHV-6 reaktivasyonu insidansı, solid organ (SOT) veya kemik iliği (BMT) transplantasyonu hastalarında hafif BMT tercihiyle birlikte yaklaşık %0 ila 80'dir (ort. %30 ila %50)¹. HHV-6A reaktivasyonu, HHV-6B'nin aksine, transplantasyondan sonra nadir olarak tanımlanır. HHV-6B reaktivasyonu ilk birkaç ay içinde hastaların yaklaşık %40'ını etkiler. HCT'den sonra ensefalitin en yaygın enfeksiyöz sebebidir (hastaların %1'i). HHV-6B ensefaliti olan hastalarda genellikle plazmada ≥ 10.000 kopya/ml³ viral yüklerle eş zamanlı HHV-6B saptanmıştır.

PROSEDÜR PRENSİPLERİ

NeuMoDx™ System'da NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, analizi gerçekleştirmek için NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator'lar, NeuMoDx™ HHV-6 External Control'lar, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 ve genel kullanıma yönelik NeuMoDx™ reaktiflerini kullanır. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, gerçek zamanlı PCR ile otomatik DNA ekstraksiyonu, amplifikasyonu ve saptamasını bir araya getirir. NeuMoDx™ System ile uyumlu birincil veya ikincil numune tüplerinde yer alan plazma numuneleri, işleme amacıyla NeuMoDx™ System'a yüklenecek olan bir numune tüpü taşıyıcıya yerleştirilir. Başka operatör müdahalesi gerekmez.

NeuMoDx™ System'lar; hücre lizisi, DNA ekstraksiyonu ve inhibitörlerin giderilmesi işlemlerini otomatik olarak gerçekleştirmek için ısı, litik enzim ve ekstraksiyon reaktiflerinin bir bileşimini kullanır. Serbest kalan nükleik asitler, manyetik afinite mikroküreleri tarafından yakalanır. Mikroküreler, bağlanan nükleik asitler ile birlikte, bağlanmayan, DNA dışı bileşenlerin NeuMoDx™ Wash Reagent ile yıkanarak daha fazla giderildiği ve bağlanan DNA'nın, NeuMoDx™ Release Reagent kullanılarak elüsyonunun yapıldığı NeuMoDx™ Cartridge'e yüklenir. NeuMoDx™ System'lar daha sonra HHV-6'ya özgü hedeflerin ve SPC1 hedefinin PCR amplifikasyonu için gerekli tüm öğeleri içeren SENTINEL CH. S.p.A. tescilli dondurularak kurutulmuş amplifikasyon reaktiflerini rehidre etmek için elüsyonu yapılmış DNA'yı kullanır. Liyofilize PCR reaktifleri sulandırıldıktan sonra NeuMoDx™ System, hazırlanan PCR'ye hazır karışımı, NeuMoDx™ Cartridge'in içine dağıtır. Kontrol ve hedef DNA sekanslarının (mevcutsa) amplifikasyonu ve saptanması NeuMoDx™ Cartridge'in PCR bölmesi alanında gerçekleşir. NeuMoDx™ Cartridge ayrıca, gerçek zamanlı PCR'nin ardından amplikonu tutmak ve böylece temel olarak, amplifikasyon sonrası kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak üzere tasarlanmıştır.

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'in genomik hedefleri, HHV-6A ve HHV-6B viral genomlarının U31 ve U67 genleridir. Bu amplifiye hedefler, ampliconların ilgili hedeflerine özgü florojenik oligonükleotid prob moleküllerinin kullanıldığı hidroliz probu kimyası (yaygın olarak TaqMan® kimyası olarak adlandırılır) kullanılarak gerçek zamanlı olarak saptanır. TaqMan® problemleri, oligonükleotid probunun 5' ucuna kovalent bağlanan bir florofordan ve 3' ucunda bir baskılayıcıdan oluşur. Prob intakt durumdayken florofor ve baskılayıcı birbirine yakındır. Bu da, baskılayıcı molekülünün, florofor tarafından FRET (Förster Rezonans Enerji Transferi) aracılığıyla yayılan floresansı baskılamasına yol açar. TaqMan® problemleri, belirli bir primer seti tarafından amplifiye edilen bir DNA bölgesi içinde bağlanacak şekilde tasarlanmıştır. Taq DNA polimerazı primeri uzattıkça ve yeni iplikliği sentezledikçe Taq DNA polimerazının 5' ile 3' ekzonükleaz aktivitesi, şablona bağlanan probu degrade eder. Probun degradasyonu, floroforun salınmasına ve baskılayıcı ile yakın mesafeyi aşarak FRET kaynaklı baskılama etkisinin aşılmasına yol açar ve floroforun floresansı ile saptanmasını sağlar. NeuMoDx™ System kantitatif PCR ısıl döngüleyicide saptanan floresan sinyali, salınan florofor ile doğru orantılıdır ve mevcut olan hedef DNA miktarı ile korele edilebilir⁵.

5' ucunda floroforlar ve 3' ucunda baskılayıcılar ile etiketlenen TaqMan® problemleri, HHV-6A DNA'sı, HHV-6B DNA'sı ve SPC1 DNA'sını saptamak için kullanılır. NeuMoDx™ System yazılımı, her amplifikasyon döngüsünün sonunda TaqMan® problemleri tarafından yayılan floresan sinyalini izler. Amplifikasyon tamamlandığında NeuMoDx™ System yazılımı, verileri analiz eder ve sonucu (POSITIVE (POZİTİF) / NEGATIVE (NEGATİF) / INDETERMINATE (ŞÜPHELİ) / UNRESOLVED (ÇÖZÜMLENMEMİŞ) / NO RESULT (SONUÇ YOK)) raporlar. Sonuç pozitif ve hesaplanan konsantrasyon kantitasyon limitleri dahilindeyse NeuMoDx™ System yazılımı ayrıca, hesaplanan konsantrasyonun doğrusal aralığın dışında olması durumunda örnek ile ilişkili kantitatif bir değer sağlar veya raporlar.

REAKTİFLER/SARF MALZEMELERİ

Sağlanan Materyal

REF	İçindekiler	Ünite başına test	Paket başına test
202500	NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip <i>SPC1'e özgü TaqMan® prob ve primerlerine ek olarak HHV-6A'e özgü TaqMan® prob ve primerlerini, HHV-6B'ye özgü TaqMan® prob ve primerlerini içeren Dondurularak Kurutulmuş PCR reaktifleri.</i>	16	96

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Reaktifler ve Sarf Malzemeleri (NeuMoDx'ten Ayrı Olarak Temin Edilebilir)

REF	İçindekiler
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Kurutulmuş paramanyetik partiküller, litik enzim ve örnek işleme kontrolleri.</i>
801000	NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator'lar <i>Standart eğrinin geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık HHV-6A ve HHV-6B Yüksek ve Düşük Kurutulmuş Kalibratör setleri.</i>
901000	NeuMoDx™ HHV-6 External Control'lar <i>Tek kullanımlık HHV-6A ve HHV-6B Pozitif kurutulmuş kontrol ve Negatif kontrol setleri (NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'ın günlük geçerliliğini belirlemek için)</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Filtreler ile Hamilton CO-RE Uçlar (300 µL)
235905	Filtreler ile Hamilton CO-RE Uçlar (1.000 µL)

Reaktifler ve sarf malzemeleri ile ilgili ayrıntılar için lütfen ilgili prospektüse bakın

Gerekli Cihazlar

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) veya **NeuMoDx™ 96 Molecular System** (REF 500200).
NeuMoDx System Software sürüm 1.9.2.6 veya üzeri.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, yalnızca NeuMoDx™ System'lar ile in vitro tanı amaçlı kullanım içindir.
- Testi gerçekleştirmeden önce, kit prospektüsünde yer alan tüm talimatları okuyun.
- Listelenen son kullanma tarihi geçmiş reaktifleri veya sarf malzemelerini kullanmayın.
- Ürün geldiğinde güvenlik mührü kırılmışsa veya ambalaj hasar görmüşse reaktifleri kullanmayın.
- Ürün geldiğinde koruyucu kese açık veya kırıkta sarf malzemelerini veya reaktifleri kullanmayın.
- Başka ticari kitlerden amplifikasyon reaktifleriyle karıştırmayın.
- Yeniden kullanmayın.
- Tüm NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'leri alüminyum zarflarında ışık ve nemden koruyarak muhafaza edin.

- Klinik örnekleri için test sonuçlarının oluşturulmasından önce NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator'lardan (REF 801000) yüksek ve düşük kalibratörler işlenerek oluşturulmuş geçerli bir test kalibrasyonu bulunmalıdır.
- NeuMoDx™ HHV-6 External Control'ların (REF 901000) test boyunca 24 saatte bir olmak üzere NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'ler ile işlenmesi gerekir.
- Minimum numune hacmi, aşağıda tanımlandığı şekilde tüp boyutu, numune taşıyıcı ve numune hacmine bağlıdır. Belirtilen minimum değer altındaki hacim "Quantity Not Sufficient" (Miktar Yeterli Değil) Hatasına neden olur.
- Uygun olmayan sıcaklıklarda veya belirtilen saklama sürelerinden daha uzun süreliğine saklanan numunelerin kullanımı geçersiz veya hatalı sonuçlar verebilir.
- Tüm reaktiflerin ve sarf malzemelerinin mikrobiyal ve deoksiribonükleaz (DNaz) kontaminasyonundan kaçının. İkincil numune tüpleri kullanılıyorsa steril, DNaz içermeyen tek kullanımlık transfer pipetleri kullanmanız tavsiye edilir. Her numune için yeni bir pipet kullanın.
- Kontaminasyonu önlemek için NeuMoDx™ Cartridge'i amplifikasyondan sonra kullanmayın veya parçalarına ayırmayın. NeuMoDx™ Cartridge'leri hiçbir durumda Biyolojik Tehlikeli Atık Kabından (NeuMoDx™ 288 Molecular System) veya Biyolojik Tehlikeli Atık Kutusundan (NeuMoDx™ 96 Molecular System) almayın. NeuMoDx™ Cartridge, kontaminasyonu engellemek üzere tasarlanmıştır.
- Açık tüp PCR testlerinin de laboratuvar tarafından yürütüldüğü durumlarda, NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'in, test için gerekli olan ilave sarf malzemelerinin ve reaktiflerin; eldiven ve laboratuvar önlüğü gibi kişisel koruyucu donanımların ve NeuMoDx™ System'in kontamine olmamasına dikkat edilmelidir.
- NeuMoDx™ reaktifleri ve sarf malzemeleri kullanılırken temiz, pudrasız, nitril eldivenler kullanılmalıdır. NeuMoDx™ Cartridge'in üst yüzeyine, NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'in veya NeuMoDx™ Extraction Plate'in folyo mührüne veya NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 kabının üst yüzeyine dokunmamaya dikkat edilmelidir; sarf malzemeleri ve reaktifler yalnızca yan yüzeylere dokunularak kullanılmalıdır.
- Her reaktif için (uygun olduğu durumlarda) www.neumodx.com/client-resources adresinde Güvenlik Veri Sayfaları (Safety Data Sheets, SDS) sağlanmıştır.
- Metin kenar boşluğundaki dikey bir çubuk, önceki prospektüs versiyonuyla karşılaştırmalı olarak değişiklikleri gösterir.
- Testi yaptıktan sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- Ağızla pipetlemeyin. Numunelerin veya reaktiflerin kullanıldığı yerlerde sigara içmeyin ve bir şey yiyip içmeyin.
- Numuneleri her zaman enfeksiyöz gibi düşünerek OSHA Kan Yoluyla Bulaşan Patojenler Standardı⁶ içinde açıklanan güvenli laboratuvar prosedürleri doğrultusunda kullanın. Enfeksiyöz ajanlar içeren veya içerdiğinden şüphelenilen materyaller için Biyolojik Güvenlik Seviyesi 2⁷ veya diğer geçerli biyolojik güvenlik uygulamaları^{8,9} uygulanmalıdır.
- Kullanılmayan reaktifleri ve atığı, ülkeye özel, federal, bölgesel, eyalete özel ve yerel yönetmelikler doğrultusunda bertaraf edin. Güvenlik Veri Sayfasında (Safety Data Sheet, SDS) yer alan önerileri izleyin.

ÜRÜNÜ SAKLAMA, KULLANMA VE STABİLİTE

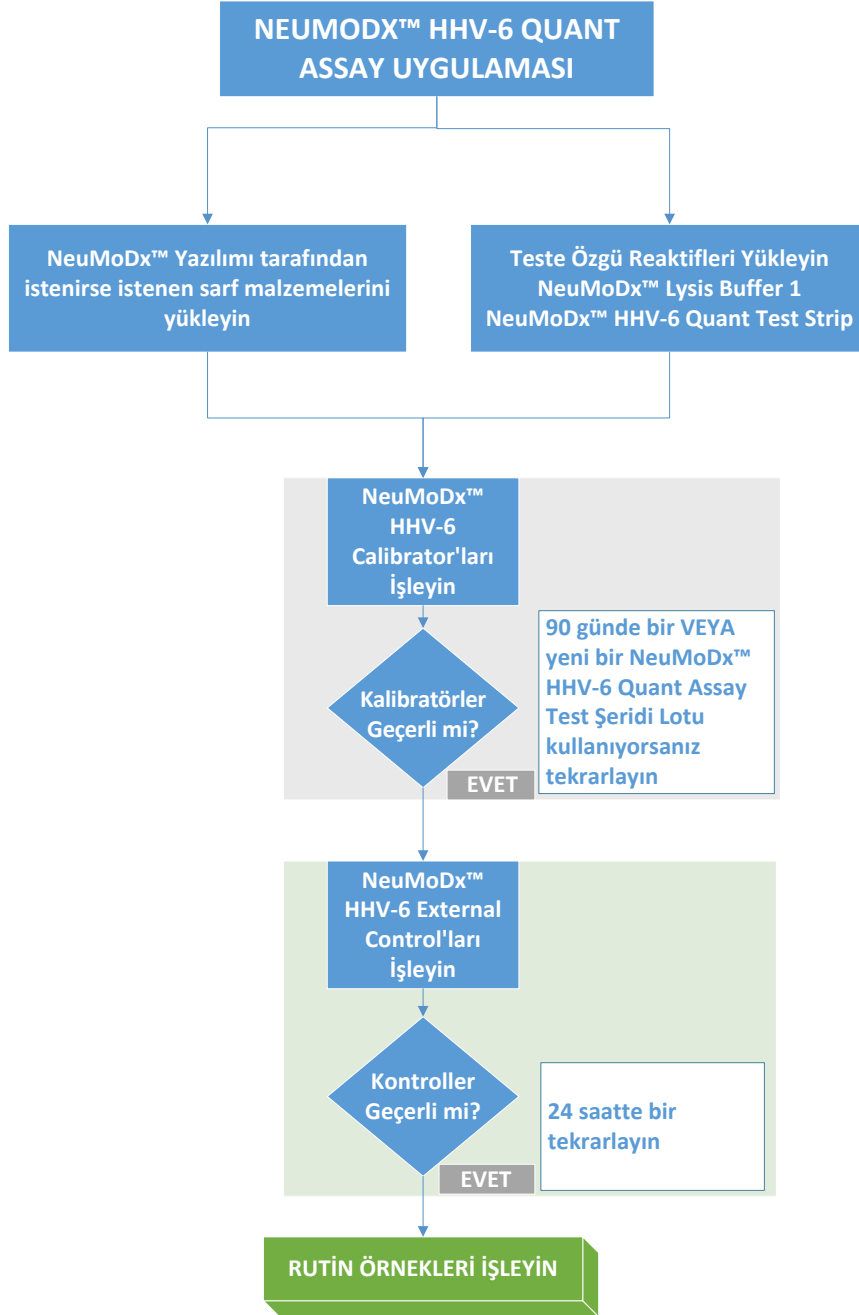
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'ler, birincil ambalajında, +15°C /+30°C sıcaklıkta, ürünün üzerindeki etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.
- NeuMoDx™ System'a yüklenen bir NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, 32 gün boyunca stabildir. NeuMoDx™ System yazılımı, NeuMoDx™ System üzerinde 32 günden daha uzun süre kullanımda olan test şeritlerinin çıkarılmasını isteyecek ve yeni NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'lerin açılması (şeritleri torbadan çıkarın) ve NeuMoDx™ System'a yüklenmesi gerekecektir. Test şeridi taşıyıcıya yükleme sırasında şeridin alüminyum folyosunu çıkarmayın.
- NeuMoDx™ HHV-6 kalibratörler ve kontroller enfeksiyöz değildir ancak uygun kullanılmadığı takdirde kontaminasyona yol açabilecek hedef materyal içerdiklerinden kullanımdan sonra laboratuvarın biyolojik tehlikeli atığına atılmalıdır.

NUMUNE TOPLAMA, TAŞIMA VE SAKLAMA

1. Tüm numuneleri, enfeksiyöz ajan bulaştırma olasılığı varmış gibi kullanın.
2. Birincil tüplerde saklanan tam kan veya plazma numunelerini dondurmayın.
3. Plazma numunelerini hazırlamak için tam kan, antikoagülan olarak EDTA kullanılarak steril tüplerde toplanmalıdır. Numune tüpü üreticisinin talimatlarını izleyin.
4. Yukarıda listelenen cihazlarda toplanan tam kan, plazma hazırlığı için +2°C/+8°C sıcaklıkta, 24 saate kadar saklanabilir ve/veya taşınabilir. Örnek hazırlığı üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmelidir.
5. Hazırlanan plazma, işlenmeden önce NeuMoDx™ System'da 24 saate kadar saklanabilir. İlave saklama süresi gerekiyorsa numunelerin soğutulması veya ikincil alikotlar olarak dondurulması önerilir.
6. Hazırlanan plazma numuneleri testten önce, 8 günü aşmamak kaydıyla +2°C/+ 8°C sıcaklıkta ve oda sıcaklığında maksimum 24 saat saklanmalıdır.
7. Hazırlanan numuneler, işlenmeden önce 8 haftaya kadar < -20°C'de saklanabilir. Örnekler, kullanılmadan önce 2'nin üzerinde dondurma/çözürme döngüsüne tabi bırakılmamalıdır:
 - a. Örnekler dondurulmuşsa testten önce örneklerin oda sıcaklığında (+15°C/+30°C) tamamen çözünmesini bekleyin. Birim başına eşit dağılımlı bir örnek elde etmek için vorteksleyin.
 - b. Dondurulmuş örnekler çözürüldükten sonra 24 saat içinde test gerçekleştirilmelidir.
8. Gönderilen numuneler ambalajlanmalı ve uygun ülke düzenlemeleri ve/veya uluslararası düzenlemeler ile uyumlu bir şekilde etiketlenmelidir.
9. Numuneleri anlaşılır bir şekilde etiketleyin ve numunelerin HHV-6A ve/veya HHV-6B testi için olduğunu belirtin.

10. *Test Hazırlığı* bölümüne ilerleyin.

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'ın genel uygulama süreci *Şekil 1* üzerinde özetlenmiştir.



Şekil 1: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay Uygulaması İş Akışı.

KULLANMA TALİMATI

Test Hazırlığı

Plazma örnekleri için NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay doğrudan birincil kan toplama tüplerinden veya ikincil tüplerdeki numune alikotlarından çalışılabilir.

1. Barkod etiketini, NeuMoDx™ System ile uyumlu bir numune tüpüne uygulayın. Birincil kan toplama tüpü etiketlenebilir ve üreticinin talimatları doğrultusunda santrifügasyon sonrası doğrudan uygun Numune Tüpü Taşıyıcıya yerleştirilebilir.
2. Birincil toplama tüpündeki plazma numunesini test ediyorsanız barkodlu tüpü bir Numune Tüpü Taşıyıcısına yerleştirin ve NeuMoDx™ System'a yüklemeyen önce kapağının çıkarıldığından emin olun. Jel/beyaz kan hücresi katmanının **üzerindeki** minimum hacimler aşağıda tanımlanmıştır ve numuneler tüp üreticisinin talimatları doğrultusunda toplandığı ve işlendiği sürece elde edilecektir. Uygun şekilde toplanmayan numuneler için performans garanti edilemez.
3. İkincil tüpteki Plazma örnekleri için aşağıda tanımlanan hacimlere göre, NeuMoDx™ System ile uyumlu olan barkodlu numune tüpüne numunenin bir alikotunu aktarın:

Numune Tüpü Taşıyıcısı	Tüp Boyutu	Minimum Gerekli Numune Hacmi
32 Tüplü Numune Tüpü Taşıyıcısı	11-14 mm çap x 60-120 mm yükseklik	750 µL
24 Tüplü Numune Tüpü Taşıyıcısı	14,5-18 mm çap x 60-120 mm yükseklik	1100 µL
Düşük Hacimli Numune Tüpü Taşıyıcısı	1,5 mL'lik konik tabanlı mikrosantrifüj tüpü	650 µL

NeuMoDx™ System Çalışması

Ayrıntılı talimatlar için NeuMoDx™ 288 ve 96 Molecular System'lerin Operatör Kılavuzlarına başvurun (p/n 40600108 ve 40600317)

1. Test isteğini, istenen tüp tipine göre NeuMoDx™ System'a yükleyin.
2. Alüminyum NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'lerin torbalarını yatay çentiklerle gösterilen noktadan kesin.
3. Kullanımdan hemen önce şeritleri torbalardan çıkarın.
4. Torbaları kullanmadan önce mutlaka mühürlenmiş olduklarından ve kurutucu saşesinin hala içinde olduğundan emin olun. Yalnızca hasar görmemiş torbaları kullanın.
5. Kurutucu saşesi turuncudan yeşile dönerse alüminyum torbaları ve içeriklerini atın.
6. Bir veya daha fazla NeuMoDx™ System Test Strip taşıyıcısını, NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'leri ile doldurun ve Test Şeridi Taşıyıcılarını NeuMoDx™ System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın.
7. NeuMoDx™ System yazılımı tarafından istenmesi durumunda gerekli sarf malzemelerini NeuMoDx™ System sarf malzemesi taşıyıcılarına ekleyin ve taşıyıcıları NeuMoDx™ System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın.
8. NeuMoDx™ System yazılımı tarafından istenmesi halinde NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent'ı değiştirin, Sıvı Geçirme Atığı, Biyolojik Tehlikeli Atık Kabı (yalnızca NeuMoDx 288 Molecular System), Uç Atık Kutusu (yalnızca NeuMoDx™ 96 Molecular System) veya Biyolojik Tehlikeli Atık Kutusunu (yalnızca NeuMoDx™ 96 Molecular System) uygun şekilde boşaltın.
9. NeuMoDx™ System yazılımı tarafından istenirse kalibratörleri (REF 801000) ve/veya harici kontrolleri (REF 901000) gerektiği şekilde işleyin. Kalibratörler ve kontrollere ilişkin daha fazla bilgi Sonuçları İşleme bölümünde bulunabilir.
10. Kalibratör/kontrol tüplerini standart bir 32 Tüplü Taşıyıcıya yükleyin ve tüm tüplerin kapaklarının çıkarılmış olduğundan emin olun.
11. Numune Tüpü Taşıyıcılarını, otomatik yükleyici rafına yerleştirin, tüm tüplerin kapaklarının çıkarılmış olduğundan emin olun ve taşıyıcıları NeuMoDx™ System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın. Böylece, sistemde geçerli bir test isteği bulunduğu sürece, tanımlanan testler için yüklenen numuneler işlenmeye başlar.

SINIRLAMALAR

- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, yalnızca NeuMoDx™ System'lar üzerinde kullanılabilir.
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'in performansı, antikoagülan olarak EDTA ile toplanan tam kandan hazırlanan plazma numuneleri için belirlenmiştir. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'in başka numune türleri ile kullanımı değerlendirilmemiştir ve testin diğer numune türleri için performans özellikleri bilinmemektedir.
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, heparinize insanlardan alınan örneklerle kullanılmamalıdır.
- HHV-6A ve /veya HHV-6B DNA saptaması örnekte bulunan organizmaların sayısına bağlı olduğundan güvenilir sonuçlar alınması, doğru numune toplama, kullanımı ve saklamaya bağlıdır.
- Uygun olmayan numune toplama, kullanımı, saklama, teknik hata veya numune tüplerinde karışıklık olması sonucu hatalı sonuçlar elde edilebilir. Bunlara ek olarak, örnekteki viral partiküllerin sayısı NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in saptama limitinin altında olduğu için yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir.
- NeuMoDx™ System'in kullanımı, NeuMoDx™ System kullanımı konusunda eğitim almış personelle sınırlandırılmıştır.
- HHV-6A, HHV-6B ve SPC1 hedeflerinin amplifiye etmemesi durumunda geçersiz bir sonuç (Indeterminate (Şüpheli) veya Unresolved (Çözümlememiş)) raporlanır ve testin tekrarlanması gerekir.
- Örnek işleminin tamamlanmasından önce bir sistem hatası meydana gelirse "No Result" (Sonuç Yok) raporlanır ve testin tekrarlanması gerekir.
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sonucu Positive (Pozitif) ancak kantitasyon değeri kantitasyon limitlerinin ötesindeyse NeuMoDx™ System, saptanan HHV-6A ve/veya HHV-6B DNA'sının Alt Kantitasyon Limitinin (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) altında mı yoksa Üst Kantitasyon Limitinin (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) üstünde mi olduğunu raporlar.
- Saptanan HHV-6A ve/veya HHV-6B DNA'sının ULoQ'nun üstünde olması durumunda NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, orijinal numunenin seyreltilmiş bir alikotu ile tekrarlanabilir. HHV-6A ve HHV-6B DNA negatif plazmanın veya Basematrix 53 Diluent'in (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) 1:100 veya 1:1000 oranında bir dilüsyonu önerilir. Sistem, orijinal numunenin konsantrasyonunu aşağıda belirtildiği şekilde otomatik olarak hesaplar: Tekrarlama öncesinde seyreltme faktörü yazılımda uygun şekilde seçildiği sürece orijinal numune konsantrasyonu = \log_{10} (seyreltme faktörü) + seyreltilmiş örneğin raporlanan konsantrasyonu olur.
- PCR inhibitörlerinin zaman zaman plazmada bulunması, bir sistem Kantitasyon Hatasına yol açabilir. Böyle bir durumda, testin, 1:10 veya 1:100 Basematrix'te seyreltilmiş aynı numune ile tekrarlanması önerilir.
- Pozitif bir sonuç, her zaman canlı organizmaların varlığına işaret etmez. Ancak pozitif bir sonuç, HHV-6A ve/veya HHV-6B DNA'sının mevcut olduğunu belirtir.
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay tarafından hedeflenen korunmuş bölgelerdeki silinme veya mutasyonlar, saptamayı etkileyebilir veya NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip kullanılırken hatalı bir sonuca yol açabilir.
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'den elde edilen sonuçlar, klinik gözlemler ve doktorun ulaşabildiği diğer bilgilere ek olarak kullanılmalıdır. Test, enfeksiyon tanısı koyma amacı taşımamaktadır.
- Kontaminasyonu önlemek için hasta numuneleriyle yapılan çalışmalar arasında eldiven değiştirmek gibi iyi laboratuvar uygulamaları önerilir.

SONUÇLARI İŞLEME

Mevcut sonuçlar, NeuMoDx™ System dokunmatik ekranında bulunan Results (Sonuçlar) penceresindeki "Results" (Sonuçlar) sekmesinden görüntülenebilir veya yazdırılabilir. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sonuçları NeuMoDx™ System yazılımı tarafından, NeuMoDx™ HHV-6 Assay Definition File'da (Tahlil Tanımlama Dosyası) belirtilen karar algoritması ve sonuç işleme parametreleri kullanılarak otomatik olarak oluşturulur. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sonucu, hedefin ve örnek işleme kontrolünün amplifikasyon durumuna dayalı olarak Negative (Negatif), raporlanan HHV-6A ve/veya HHV-6B konsantrasyonu ile Positive (Pozitif), ULoQ'nun üzerinde Positive (Pozitif), LLoQ'nun altında Positive (Pozitif), Indeterminate (Şüpheli) (IND), Unresolved (Çözümlememiş) (UNR) veya No Result (Sonuç Yok) (NR) olarak raporlanabilir. Sonuçlar, aşağıda *Tablo 1* içinde özetlenen ADF sonuç işleme algoritmasına dayalı olarak raporlanır.

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'ten elde edilen sonuçlar, diğer klinik bulgular ve laboratuvar bulgularıyla birlikte yorumlanmalıdır.

Tablo 1: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay Sonuçlarının Yorumlanması Özeti

Sonuç	HHV-6A/HHV-6B	Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1)	Sonucun Yorumlanması
Raporlanan Konsantrasyonla Birlikte Pozitive (Pozitif)	Amplified (Amplifiye) $2,30 \leq [\text{HHV-6A}] \leq 6,0 \log_{10}$ kopya/mL	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralık içinde HHV-6A DNA'sı saptandı
	Amplified (Amplifiye) $2,30 \leq [\text{HHV-6B}] \leq 6,0 \log_{10}$ IU/mL	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralık içinde HHV-6B DNA'sı saptandı
Positive (Pozitif), Üst Kantitasyon Limitinin [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] üzerinde	Amplified (Amplifiye) $[\text{HHV-6A}] > 6,0 \log_{10}$ kopya/mL	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralığın üzerinde HHV-6A DNA'sı saptandı
	Amplified (Amplifiye) $[\text{HHV-6B}] > 6,0 \log_{10}$ IU/mL	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralığın üzerinde HHV-6B DNA'sı saptandı
Positive (Pozitif), Alt Kantitasyon Limitinin [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] altında	Amplified (Amplifiye) $[\text{HHV-6A}] < 2,30 \log_{10}$ kopya/mL	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralığın altında HHV-6A DNA'sı saptandı
	Amplified (Amplifiye) $[\text{HHV-6B}] < 2,30 \log_{10}$ IU/mL	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralığın altında HHV-6B DNA'sı saptandı
Negative* (Negatif*)	Not Amplified (Amplifiye Değil)	Amplified (Amplifiye)	HHV-6A/HHV-6B DNA'sı saptanmadı
Indeterminate (Şüpheli)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptandı, Örnek İşleme Tamamlandı)		Tüm hedef sonuçları geçersiz; örneği yeniden test edin†
No Result (Sonuç Yok)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptandı, Örnek İşleme İptal Edildi)		Örnek işleme iptal edildi; örneği yeniden test edin†
Unresolved (Çözümlememiş)	Not Amplified, No System Error Detected (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptanmadı)		Tüm hedef sonuçları geçersiz; örneği yeniden test edin†

*Diğer testlerde olduğu gibi, negatif sonuçlar HHV-6A ve/veya HHV-6B enfeksiyonunu ihtimal dışı bırakmaz.

†NeuMoDx™ System, son kullanıcının, sonuç raporlamasındaki gecikmeleri en aza indirmek için bir IND/NR/UNR sonucunun otomatik olarak yeniden işleneceğinden emin olmak üzere seçebileceği, otomatik Rerun (Tekrar Çalıştırma)/Repeat (Tekrarlama) özelliğine sahiptir.

Test Hesaplaması

- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in Kantitasyon aralığında olan örnekler söz konusu olduğunda, örneklerdeki HHV-6A DNA'sı ve HHV-6B DNA'sı konsantrasyonu, kalibrasyon katsayılarıyla birlikte ilgili saklanan standart eğrileri kullanılarak hesaplanır.
 - Her hedef için belirli bir NeuMoDx™ System'da, belirli bir NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip lotu için Standart Eğri geçerliliğini belirlemek üzere işlenen NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator'ların sonuçlarına dayalı olarak bir kalibrasyon katsayısı hesaplanır.
 - Kalibrasyon katsayısı, HHV-6A DNA'sı ve HHV-6B DNA'sı konsantrasyonunun nihai tayini için kullanılır.
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sonuçları, HHV-6A hedefi için \log_{10} kopya/mL ve kopya/mL ve HHV-6B hedefi için \log_{10} IU/mL ve IU/mL olarak raporlanır.
- Bilinmeyen örneklerin kantitasyonu, dijital damla PCR (ddPCR) ile kantifiye EDX HHV-6A doğrulama panelinde (Exact Diagnostics) ve HHV-6B virüsü DNA'sı için 1. WHO Uluslararası Standardında izlenebilir (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC kodu: 15/266).

Test Kalibrasyonu

Numunelerdeki HHV-6A DNA'sı ve/veya HHV-6B DNA'sı miktarını belirlemek için Standart Eğriye dayalı olan geçerli bir kalibrasyon gereklidir. Geçerli sonuçlar elde etmek için NeuMoDx™ Molecular, Inc. tarafından sağlanan kalibratörler kullanılarak hem HHV-6A hem de HHV-6B için bir test kalibrasyonu tamamlanmalıdır.

Kalibratörler

- NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator'lar bir kit içinde sağlanır (REF 801000) ve kurutulmuş bir sentetik HHV-6A DNA'sı ve HHV-6B DNA'sı peletinden ve özel bir tampondan oluşur.
- NeuMoDx™ System'a yeni bir HHV-6 Assay Definition File (Tahlil Tanımlama Dosyası) yüklenmişse, mevcut kalibratör setinin geçerlilik süresi (mevcut durumda 90 güne ayarlıdır) dolmuşsa veya NeuMoDx™ System yazılımı üzerinde değişiklik yapılmışsa her yeni NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip lotu ile birlikte bir HHV-6 kalibratör setinin işlenmesi gerekir.
- NeuMoDx™ System yazılımı kullanıcıyı, kalibratörlerin işlenmesi gerektiğinde bilgilendirir. Kalibratörler başarılı bir şekilde işlenene kadar yeni bir test şeridi lotu test için kullanılamaz.
- Yeni bir HHV-6 kalibratör setinin işlenmesi gerekiyorsa testi gerçekleştirmeden önce NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator'ların prospektüsünde bulunan tüm talimatları okuyun.

5. Kalibrasyon geçerliliği aşağıdaki şekilde belirlenir:
 - a. Her eğri için geçerlilik sağlamak amacıyla her bir hedefe yönelik iki kalibratör setini (yüksek ve düşük) işleyerek biri HHV-6A, diğeri HHV-6B için olmak üzere iki kalibrasyon katsayısının oluşturulması gereklidir.
 - b. Geçerli sonuçlar elde etmek için 3 tekrarın en az 2'sinden, ön tanımlı parametreler dahilinde sonuçlar elde edilmelidir. HHV-6A kalibratör seti için düşük kalibratör nominal hedefi 3,0 log₁₀ kopya/mL, yüksek kalibratör nominal hedefi ise 5,0 log₁₀ kopya/mL'dir; HHV-6B kalibratör seti için düşük kalibratör nominal hedefi 3,0 log₁₀ IU/mL, yüksek kalibratör nominal hedefi ise 5,0 log₁₀ IU/mL'dir.
 - c. Kalibrasyon katsayısı, test şeridi lotları arasında beklenen farklılığı dikkate alacak şekilde hesaplanır. Bu kalibrasyon katsayısı, nihai HHV-6A ve/veya HHV-6B konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılır.
6. Bir veya her iki kalibratörün geçerlilik kontrolünde başarısız olması durumunda başarısız kalibratörlerin işlemlerini, yeni bir şişe kullanarak tekrarlayın. Kalibratörlerden birisinin geçerlilik kontrolünde başarısız olması halinde sistem kullanıcının her iki kalibratörü de tekrar çalıştırmasını gerektirmediği için yalnızca başarısız olan kalibratörün tekrarlanması mümkündür.
7. Kalibratörlerin geçerlilik kontrolünde art arda ikinci kez başarısız olması durumunda QIAGEN Teknik Destek birimiyle iletişime geçin.

Kalite Kontrol

Yerel yönetmelikler tipik olarak, analitik işlemin tamamının doğruluğunu ve kesinliğini izleyen kontrol prosedürlerinden laboratuvarın sorumlu olduğunu ve üzerinde değişiklik yapılmamış, onaylı bir test sistemine yönelik doğrulanmış performans özellikleri kullanılarak kontrol materyallerinin sayısı, türü ve sıklığının laboratuvar tarafından belirlenmesi gerektiğini belirtir.

Harici Kontroller

1. HHV-6A ve HHV-6B External Control'lar (REF 901000) NeuMoDx™ tarafından sağlanır. Pozitif kontroller kurutulmuş bir HHV-6A ve HHV-6B DNA'sı peleti içerir. Negatif kontrol, tampondur.
2. Pozitif ve negatif harici kontrollerin, 24 saatte bir kez işlenmesi gerekir. Geçerli bir harici kontrol seti mevcut değilse NeuMoDx™ System yazılımı kullanıcından, örnek sonuçlarının raporlanabilmesi için bu kontrollerin işlenmesini ister.
3. Harici kontroller gerekiyorsa testi gerçekleştirmeden önce, pozitif ve negatif kontrolleri HHV-6 External Control'lar prospektüsünde belirtildiği şekilde hazırlayın.
4. Dokunmatik ekranı kullanarak ve otomatik yükleyici rafına bir Numune Tüpü Taşıyıcısı yerleştirilmiş olarak, pozitif ve negatif kontrolleri NeuMoDx™ System'a yükleyin. NeuMoDx™ System, barkodu tanıy ve test için gerekli olan reaktiflerin veya sarf malzemelerinin bulunmaması söz konusu değilse harici kontrol tüplerini işlemeye başlar.
5. Harici kontrollerin geçerliliği, beklenen sonuca dayalı olarak NeuMoDx™ System tarafından değerlendirilir. Pozitif kontrol, bir HHV-6A ve HHV-6B Positive (Pozitif) sonucu, negatif kontrol ise bir HHV-6A ve HHV-6B Negative (Negatif) sonucunu vermelidir.
6. Harici kontroller için tutarsız sonuçlar aşağıdaki şekilde ele alınmalıdır:
 - a. Bir negatif kontrol örneği için Positive (Pozitif) test sonucunun raporlanması numune kontaminasyonu sorununun belirtir ve temel nedeni bulmak için laboratuvarın kalite kontrol prosedürlerinin incelenmesi gerekir. Örnek hazırlığı, kontrol kullanımı ve Gerçek Zamanlı PCR kurulumu için farklı alanlar kullandığınızdan emin olun. Sorun gidermeye ilişkin ek ipuçları için lütfen *NeuMoDx 288 veya 96 Molecular System Operatör Kılavuzuna* başvurun.
 - b. Pozitif kontrol örneği için Negative (Negatif) test sonucu raporlanması, reaktif veya cihaz ile ilgili bir sorun olduğuna işaret edebilir.
 - c. Yukarıdaki durumların her birinde veya No Result (Sonuç Yok) (NR), Unresolved (Çözümlememiş) (UNR) veya Indeterminate (Şüpheli) (IND) sonuç alınması durumunda, geçerlilik testinde başarısız olan kontrollerin bulunduğu yeni hazırlanmış şişeyle başarısız kontrolü/kontrolleri tekrarlayın.
 - d. Pozitif NeuMoDx™ HHV-6 External Control'lar Negative (Negatif) sonuç raporlamaya devam ederse QIAGEN Teknik Destek birimiyle iletişime geçin.
 - e. Negatif NeuMoDx™ HHV-6 External Control'lar Positive (Pozitif) sonuç raporlamaya devam ederse QIAGEN Teknik Destek Birimi ile iletişime geçmeden önce, TÜM reaktifleri değiştirmek de dahil olmak üzere, tüm olası kontaminasyon kaynaklarını ortadan kaldırmayı deneyin.
7. Harici Kontroller beklenen sonuçları vermezse bir pozitif ve negatif kontrol setinin tekrarlanması gerekir. Sistem tarafından geçerli bir Harici Kontrol seti işlenene kadar örnekler işlenmeyecektir. Harici kontrollerin süresi dolduğunda örneklerin işlenmekte olması durumunda sistem, geçerli bir Harici Kontrol setinin çalıştırılmasını isteyecektir. Harici kontrol seti geçerli sonuçlar vermezse örnek sonuçları raporlanmaz.

Örnek İşleme (Dahili) Kontrolleri

Eksojen bir Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1), NeuMoDx™ Extraction Plate'e dahil edilir ve her bir örnek/kontrol/kalibratör ile tüm nükleik asit ekstraksiyonu ve gerçek zamanlı PCR amplifikasyonu işleminde geçer. SPC1'e özđü primerler ve probalar her bir NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'e eklenerek, multipleks gerçek zamanlı PCR aracılığıyla, hedef HHV-6A ve/veya/ HHV-6B DNA'sı (varsa) ile SPC1'in varlığının saptanmasını sağlar. SPC1 amplifikasyonunun saptanması, NeuMoDx™ System yazılımının DNA ekstraksiyonunun ve PCR amplifikasyon işlemlerinin etkililiğini izlemesini sağlar.

Geçersiz Sonuçlar

NeuMoDx™ System üzerinde gerçekleştirilen bir NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in geçerli bir sonuç üretememesi durumunda, meydana gelen hatanın türüne dayalı olarak Indeterminate (Şüpheli) (IND), No Result (Sonuç Yok) (NR) veya Unresolved (Çözümlememiş) (UNR) sonucu raporlanır. Geçerli bir sonuç elde etmek için test, tekrarlanmalıdır.

Örnek işleme sırasında bir NeuMoDx™ System hatası saptanırsa Indeterminate (Şüpheli) sonucu raporlanır. IND (Şüpheli) sonucunun raporlanması durumunda tekrar test yapılması önerilir.

Bir NeuMoDx sistem hatası saptanırsa ve örnek işleme iptal edilirse bir No Result (Sonuç Yok) sonucu raporlanır. No Result (Sonuç Yok) sonucunun raporlanması durumunda tekrar test yapılması önerilir.

Hiçbir hedef saptanmazsa ve HHV-6A DNA'sı, HHV-6B DNA'sı veya SPC1 amplifikasyonu mevcut değilse olası reaktif hatasına veya inhibitörlerin varlığına işaret eden UNR (Çözümlememiş) sonucu raporlanır. UNR (Çözümlememiş) sonucunun raporlanması durumunda ilk adım olarak tekrar test yapılır. Yeniden test başarısız olursa herhangi bir örnek inhibisyonunun etkilerini hafifletmek için seyreltilmiş bir numune kullanılabilir (daha fazla talimat için sınırlamalar bölümüne bakın).

Geçersiz Sonuçlar ile ilişkili olabilecek hata kodlarının listesi için NeuMoDx 288 Molecular System Operatör Kılavuzuna (PN: 40600108) veya NeuMoDx 96 Molecular System Operatör Kılavuzuna (PN: 40600317) bakın.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ^{10,11,15}

Analitik Duyarlılık – Saptama Limiti¹²

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in Analitik Duyarlılığı, NeuMoDx™ System'larda Saptama Limitini (Limit of Detection, LoD) belirleme amacıyla, HHV-6A/HHV-6B negatif plazma örneklerinde EDX HHV-6A Verification Panel'in (Exact Diagnostics) ve HHV-6B Verification Panel'in (Exact Diagnostics, HHV-6B için 1. WHO Uluslararası Standardı, 15/266'ya göre kalibre edilmiştir) bir dilüsyon serisi test edilerek karakterize edilmiştir. Saptama Limiti, %95 doğruluk oranı ile saptanabilir minimum konsantrasyon olarak tanımlanmıştır. Bu, %95 Güven Aralığı (Confidence Interval, CI) ile deneysel veriye uygulanan Probit analiziyle hesaplanır. Çalışma 3 gün boyunca, birden fazla sistemde, birden fazla NeuMoDx™ reaktif lotu ile gerçekleştirilmiştir. Her bir sistem, her dilüsyon seviyesinde 42 tekrar (pozitif örnekler) işlemiş ve negatif örnekler için günde 8 tekrar işlemiştir. Saptama oranları *Tablo 2*'de gösterilmektedir.

Tablo 2: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in LoD Tayini İçin Pozitif Saptama Oranları

HHV-6A					HHV-6B				
Hedef Konsantrasyon [kopya/mL]	Hedef Konsantrasyon [\log_{10} kopya/mL]	Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı	Hedef Konsantrasyon [IU/mL]	Hedef Konsantrasyon [\log_{10} IU/mL]	Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı
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

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in LoD'si probit stili analiz kullanılarak HHV-6A için 123,5 kopya/mL (2,09 \log_{10} kopya/mL) (%95 Güven Aralığı: 102,1 ila 145,0 kopya/mL) ve HHV-6B için 178,2 IU/mL (2,25 \log_{10} IU/mL) (%95 Güven Aralığı: 151,3 ila 205,0 IU/mL) olarak belirlenmiştir.

Analytical Duyarlılık – Alt Kantitasyon Limiti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ve Üst Kantitasyon Limiti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

Alt Kantitasyon Limiti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ve Üst Kantitasyon Limiti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ), > %95 saptama oranına ulaşılan VE TAE'nin $\leq 1,0$ olduğu en düşük ve en yüksek hedef seviyesi olarak tanımlanır. LLoQ ve ULoQ'yu belirlemek üzere, Saptama Limiti testinde > %95 saptama raporladığı gösterilen her bir HHV-6A ve HHV-6B hedef seviyesi için toplam analitik hata (Total Analytical Error, TAE) hesaplanmıştır. TAE aşağıdaki şekilde tanımlanır:

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

Yanlılık, hesaplanan konsantrasyon ile beklenen konsantrasyonun ortalaması arasındaki farkın mutlak değeridir. SD, örneğin belirlenen miktar değerinin standart sapmasıdır.

LLOQ/ULOQ çalışmasında kullanılan HHV-6A/HHV-6B plazma numunelerinin 5 seviyesine ait derlenmiş sonuçlar *Tablo 3* ve *4* içinde gösterilmektedir. Bu veri setine ve önceden belirlenen LoD'ye dayalı olarak LLoQ ve ULoQ, HHV-6A için 200 kopya/mL (2,30 \log_{10} kopya/mL) ve 1×10^6 kopya/mL ve HHV-6B için 200 IU/mL (2,30 \log_{10} IU/mL) ve 1×10^6 IU/mL olarak belirlenmiştir.

Tablo 3: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; HHV-6A ULoQ ve LLoQ, Yanlılık ve TAE ile

Hedef Kons. [kopya/mL]	Hedef Kons. [\log_{10} kopya/mL]	Ortalama Kons. [\log_{10} kopya/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	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	Geçersiz	0,87	Geçersiz

Tablo 4: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; HHV-6B ULoQ ve LLoQ, Yanlılık ve TAE ile

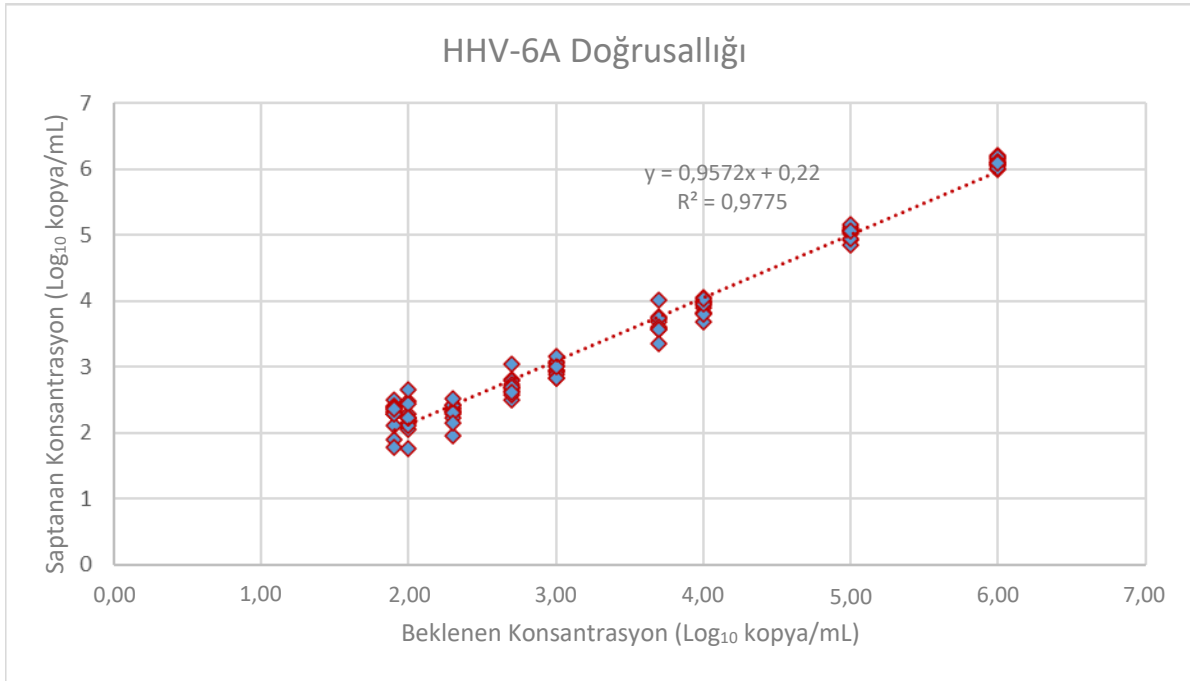
Hedef Kons. [IU/mL]	Hedef Kons. [log ₁₀ IU/mL]	Ortalama Kons. [log ₁₀ IU/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	TAE
10 ⁶	6,00	6,06	%100	0,32	0,06	0,71
200	2,30	2,12	%95,7	0,22	0,18	0,62
100	2,00	2,04	%57,1	0,24	0,04	0,52
80	1,90	1,99	%43,2	0,26	0,08	0,61
60	1,78	1,92	%32,6	0,26	0,15	0,67
40	1,60	1,79	%11,6	0,22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

Bu çalışmaların sonucuna dayanarak, NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in LoD'si HHV-6A için 123,5 kopya/mL (2,09 log₁₀ kopya/mL) ve HHV-6B için 178,2 IU/mL (2,25 log₁₀ IU/mL) olarak belirlenmiştir. LoQ HHV-6A için 200 kopya/mL (2,30 log₁₀ kopya/mL) ve HHV-6B için 200 IU/mL (2,30 log₁₀ IU/mL) olmuştur. ULoQ HHV-6A için 1x10⁶ kopya/mL ve HHV-6B için 1x10⁶ IU/mL şeklindedir.

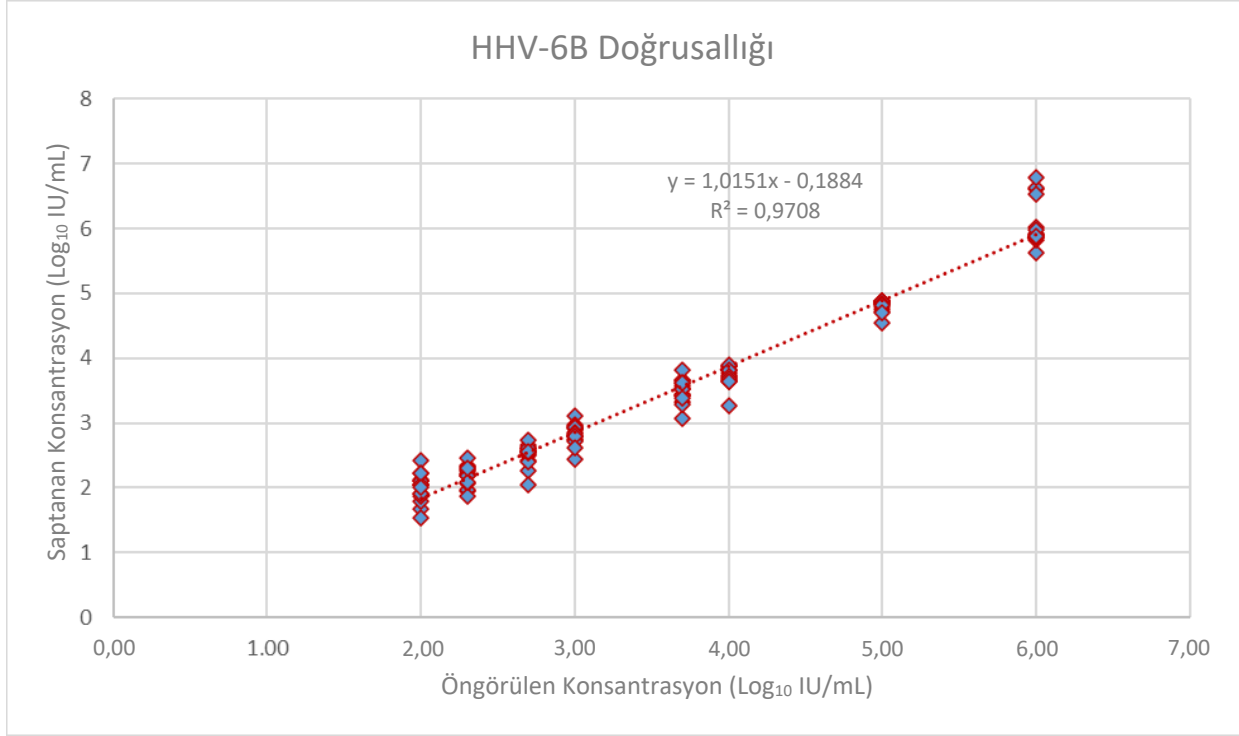
Doğrusallık¹³

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'in doğrusallığı, HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) ve EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) kullanılarak bir dilüsyon serisi hazırlanması yoluyla belirlenmiştir. 6 – 2 log₁₀ kopya/mL konsantrasyon aralığını kapsaması için HHV-6A/HHV-6B negatif insan plazmasında hazırlanmış sekiz (8) seri HHV-6A/HHV-6B paneli dilüsyonu oluşturulmuştur.

NeuMoDx™ System tarafından raporlanan HHV-6A/HHV-6B tayin konsantrasyonları, beklenen değerler ile karşılaştırılmalı olarak Şekil 2 ve 3 içinde sunulmaktadır.



Şekil 2: HHV-6A için NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in Doğrusallığı



Şekil 3: HHV-6B için NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in Doğrusallığı

Analitik Özgüllük – Çapraz Reaktivite^{10,11}

Analitik özgüllük, plazma numunelerinde sıklıkla bulunan 22 organizmanın yanı sıra HHV-6A ve HHV-6B'ye filogenetik olarak benzeyen türler çapraz reaktivite bakımından taranarak ortaya koyulmuştur. Organizmalar, 5/6 organizmalık havuzlarda hazırlanmış ve yüksek konsantrasyonda test edilmiştir (3,48 log₁₀ kopya/mL). Test edilen organizmalar Tablo 5'de gösterilmektedir. Test edilen hiçbir organizmada, NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in %100 analitik özgüllüğünü doğrulayan hiçbir çapraz reaktivite gözlemlenmemiştir.

Tablo 5: Analitik Özgüllüğü Göstermek İçin Kullanılan Patojenler

Hedef Dışı Organizmalar					
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
İnsan İmmünyetmezlik Virüsü-1	Hepatit B Virüsü	Adenovirüs tip 5	Epstein-Barr Virüsü	Varicella-Zoster Virüsü	Enterovirüs 68
BK virüsü	Herpes Simplex Virüsü 1	Herpes Simplex Virüsü 2	İnsan gamma herpes virüsü 8	Sitomegalovirüs	İnsan beta herpes virüsü 7
HTVL-1	HTVL-2	JC Virüsü	SV40	İnsan İmmünyetmezlik Virüsü-2	

Analitik Özgüllük – Olumsuz Etkileyen Maddeler, Kommensal Organizmalar^{10,11}

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, yukarıda Tablo 6 içinde listelenen, çapraz reaktivite için hazırlanan organizma havuzlarının aynıysa kullanılarak, hedef dışı organizmaların varlığında olumsuz etkileşim bakımından değerlendirilmiştir. Negatif HHV-6A/HHV-6B plazmasına, 4-7'li gruplar halinde havuzda birleştirilen organizmalar ve 2,78 log₁₀ IU/mL (600 IU/mL; 3x LoD) konsantrasyonda HHV-6A/HHV-6B hedefi eklenmiştir. Olumsuz etkileyen ajan içermeyen kontrol numunelerinden minimum kantitasyon sapması ile de gösterildiği şekilde, bu kommensal organizmaların varlığında önemli ölçüde bir olumsuz etkileşim gözlemlenmemiştir.

Analitik Özgüllük – Olumsuz Etkileyen Maddeler, Endojen ve Eksojen Maddeler^{10,11}

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, HHV-6A/HHV-6B klinik plazmasında karşılaşılan tipik eksojen ve endojen olumsuz etkileyen maddelerin varlığında değerlendirilmiştir. Bunlara, anormal ölçüde yüksek seviyede kan bileşenlerinin yanı sıra, Tablo 6'da sınıflandırılan yaygın antiviral ilaçlar da dahildir. Her madde, 2,78 log₁₀ IU/mL (600 IU/mL; 3x LoD) HHV-6A/HHV-6B eklenmiş taranmış HHV-6A/HHV-6B negatif İnsan plazmasına eklenmiş ve örnekler olumsuz etkileşim bakımından analiz edilmiştir.

Test edilen tüm maddelerin ortalama konsantrasyonu ve yanlılığı, aynı seviyede HHV-6A/HHV-6B eklenmiş kontrol örnekleri ile karşılaştırmalı olarak Tablo 7'da raporlanmıştır. Eksojen ve endojen maddelerden hiçbiri, NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay'in özgüllüğünü etkilememiştir.

Tablo 6: Etkileşim Testi – Eksojen Ajanlar (İlaç Sınıflandırmaları)

Havuz	İlaç adı	Sınıflandırma
Havuz 1	Valgansiklovir	ANTİVİRAL
	Prednizon	İMMÜNOSÜPRESİF
	Sidofovir	ANTİVİRAL
	Sefotaksim	ANTİBİYOTİK
	Mikofenolat mofetil	İMMÜNOSÜPRESİF
Havuz 2	Vankomisin	ANTİBİYOTİK
	Takrolimus	İMMÜNOSÜPRESİF
	Famotidin	HİSTAMİN ANTAGONİSTİ
	Valasiklovir	ANTİVİRAL
	Leflunomid	İMMÜNOSÜPRESİF

Tablo 7: Etkileşim Testi – Eksojen ve Endojen Ajanlar

Endojen (Plazma)	HHV-6A		HHV-6B	
	Ortalama Kons.	Yanlılık	Ortalama Kons.	Yanlılık
	log ₁₀ kopya/mL	log ₁₀ kopya/mL	log ₁₀ IU/mL	log ₁₀ IU/mL
Trigliseritler (500 mg/dL)	1,91	0,24	2,10	-0,13
Konjuge bilirubin (0,25 g/L)	2,14	0,01	2,07	-0,10
Unkonjuge bilirubin (0,25 g/L)	1,71	0,44	1,61	0,37
Albümin (58,7 g/L)	2,27	-0,13	2,04	-0,06
Hemoglobin (2,9 g/L)	2,23	-0,08	1,98	-0,01
İnsan DNA'sı (2 mg/mL)	1,74	0,41	1,86	0,12
Eksojen (İlaçlar)	Ortalama Kons.	Yanlılık	Ortalama Kons.	Yanlılık
	log ₁₀ kopya/mL	log ₁₀ kopya/mL	log ₁₀ IU/mL	log ₁₀ IU/mL
Havuz 1: Valgansiklovir, Prednizon, Sidofovir, Sefotaksim, Mikofenolat mofetil	1,65	0,28	2,07	0,06
Havuz 2: Vankomisin, Takrolimus, Famotidin, Valasiklovir, Leflunomid	2,18	-0,25	1,97	0,16

Tekrarlanabilirlik ve Laboratuvar İçi Hassasiyet¹⁴

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'in hassasiyeti, 20 gün boyunca bir NeuMoDx™ 96 System kullanılarak, günde iki kez HHV-6A veya HHV-6B plazmid ile hazırlanan HHV-6A/HHV-6B numunelerinden oluşan 3 üyeli bir panelin 2 tekrarı test edilerek belirlenmiştir. Çalışma içi, gün içi hassasiyetler karakterize edilmiş ve genel standart sapmanın HHV-6A için $\leq 0,25$ log₁₀ kopya/mL ve HHV-6B için $\leq 0,25$ log₁₀ IU/mL olduğu belirlenmiştir. Günler ve çalışmalar arasında, Tablo 8'de gösterildiği gibi mükemmel hassasiyet ortaya koyulmuştur. Operatör, NeuMoDx™ System kullanılarak örnek işlemede önemli bir role sahip olmadığı için operatörler arası hassasiyet karakterize edilmemiştir.

Tablo 8: Laboratuvar İçi Hassasiyet – NeuMoDx™ System 96'da NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Örnek	Tekrarlanabilirlik SD	Çalışmalar Arası SD	Gün İçi SD	Günler Arası SD	Genel (Laboratuvar İçi) SD
HHV-6A					
5,67 log ₁₀ kopya/mL	0,166	0,000	0,166	0,051	0,173
4,67 log ₁₀ kopya/mL	0,071	0,000	0,071	0,048	0,086
3,67 log ₁₀ kopya/mL	0,190	0,028	0,192	0,059	0,200
2,48 log ₁₀ kopya/mL	0,151	0,051	0,159	0,000	0,159
HHV-6B					
5,14 log ₁₀ IU/mL	0,217	0,000	0,217	0,070	0,228
4,14 log ₁₀ IU/mL	0,155	0,000	0,155	0,056	0,165
3,14 log ₁₀ IU/mL	0,141	0,000	0,141	0,038	0,146
2,70 log ₁₀ IU/mL	0,225	0,079	0,239	0,000	0,239

Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik¹⁴

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'in Lotlar Arası Yeniden Üretilirliği, NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'lerin üç farklı lotu kullanılarak belirlenmiştir. Bir NeuMoDx™ 96 Molecular System'in 5 ayrı çalışma boyunca performansını değerlendirmek için HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) veya EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) ile hazırlanmış 4 üyeli bir HHV-6A ve HHV-6B paneli kullanılmıştır. Lotlar içi ve arası değişkenlik analiz edilmiş ve sonuçlar, lotlar arası standart sapma olarak *Tablo 9* içinde sunulmuştur. En büyük Maksimum standart sapma 0,257 kopya/mL olmuştur. Tüm panel üyelerinin standart sapması, tolerans spesifikasyonu (Yeniden üretilebilirlik SD ≤ 0,3 log₁₀ kopya/mL) dahilinde olduğunda, lotlar arasında eşdeğer performans gösterilmiştir.

Tablo 9: Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Örnek	Tekrarlanabilirlik SD	Günler Arası SD	Lot İçi SD	Lotlar Arası SD	Yeniden Üretilirlik SD
HHV-6A					
4,73 x10 ⁵ kopya/mL	0,160	0,061	0,171	0,073	0,186
4,73 x10 ³ kopya/mL	0,166	0,087	0,188	0,069	0,200
600 kopya/mL	0,099	0,088	0,132	0,091	0,160
HHV-6B					
1,38 x10 ⁵ IU/mL	0,199	0,161	0,256	0,025	0,257
1,38 x10 ³ IU/mL	0,214	0,068	0,224	0,093	0,243
600 IU/mL	0,120	0,069	0,139	0,062	0,152

Cihazlar Arası Yeniden Üretilirlik¹⁴

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip'in Cihazlar Arası Yeniden Üretilirliği, üç farklı sistem (bir NeuMoDx™ 288 Molecular System ve iki NeuMoDx™ 96 Molecular System) kullanılarak belirlenmiştir. Performansı değerlendirmek için HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) veya EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) ile hazırlanmış bir 4 üyeli HHV-6A/HHV-6B paneli kullanılmıştır. Test, 5 gün boyunca sistemlerde gerçekleştirilmiştir. Gün içi ve sistemler arası değişkenlik karakterize edilmiş ve genel standart sapmanın HHV-6A için ≤ 0,30 log₁₀ kopya/mL ve HHV-6B için ≤ 0,30 log₁₀ IU/mL olduğu belirlenmiştir. Tüm panel üyelerinin kantitasyonundaki SD tolerans spesifikasyonu dahilinde olduğundan, sistemler arasında eşdeğer performans ortaya koyulmuştur (*Tablo 10*).

Tablo 10: Cihazlar Arası Yeniden Üretilbilirlik – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Örnek	Tekrarlanabilirlik SD	Günler Arası SD	Sistem İçi SD	Sistemler Arası SD	Yeniden Üretilbilirlik SD
HHV-6A					
5,67 log ₁₀ kopya/mL	0,228	0,000	0,228	0,000	0,228
4,67 log ₁₀ kopya/mL	0,149	0,000	0,149	0,021	0,151
3,67 log ₁₀ kopya/mL	0,210	0,101	0,233	0,000	0,233
2,48 log ₁₀ kopya/mL	0,157	0,079	0,176	0,000	0,176
HHV-6B					
5,14 log ₁₀ IU/mL	0,215	0,072	0,227	0,000	0,227
4,14 log ₁₀ IU/mL	0,259	0,014	0,260	0,023	0,261
3,14 log ₁₀ IU/mL	0,178	0,062	0,189	0,000	0,189
2,70 log ₁₀ IU/mL	0,149	0,079	0,169	0,000	0,169

REFERANSLAR

- 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.

TİCARİ MARKALAR















NeuMoDx™, NeuMoDx Molecular, Inc. firmasının ticari markasıdır.

TaqMan®, Roche Molecular Systems, Inc. firmasının tescilli ticari markasıdır.

Seracare®, Seracare Life Sciences, Inc. firmasının tescilli ticari markasıdır.

Bu belgede görülebilecek diğer tüm ürün isimleri, ticari markalar ve tescilli ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

SEMBOLLER

SEMBOL	ANLAMI
	Yalnızca reçete ile kullanılır
	Üretici
	Distribütör
	<i>In vitro</i> tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Katalog numarası
	Parti kodu
	Kullanma talimatına bakın
	Dikkat, birlikte verilen belgelere başvurun
	Sıcaklık sınırlaması
	Kuru tutun
	Yeniden kullanmayın
	Işığa maruz bırakmayın
	<n> test için yeterli içerik
	Son kullanma tarihi



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)

Teknik destek birimi: support.qiagen.com

Vijilans raporlaması: support.qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents