



201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip
IAKTTAG FÖRSIKTIGHET: Endast för export till USA



För *in vitro*-diagnostisk användning i NeuMoDx™ 288 och NeuMoDx™ 96 Molecular System



Den här bipacksedeln måste läsas igenom noggrant innan produkten används. Instruktionerna i bipacksedeln måste följas. Tillförlitligheten för analysresultaten kan inte garanteras vid avvikelser från instruktionerna i den här bipacksedeln. Se operatörshandboken till NeuMoDx™ 288 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600108. Se operatörshandboken till NeuMoDx™ 96 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600317



AVSEDD ANVÄNDNING

NeuMoDx™ BKV Quant Assay är ett automatiserat nukleinsyreamplifieringstest *in vitro* för identifiering och kvantifiering av BK-virus-DNA (BKV) i prover som extraherats från human plasma/serum och urin. NeuMoDx BKV Assay som tillämpats med NeuMoDx™ 288 Molecular System och NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx™ System) använder automatisk DNA-extraktion för att isolera målnukleinsyran från prov och använder en realtidspolymeraskedjereaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) för att söka upp sekvenserna i BKV-genomet.

NeuMoDx BKV Quant Assay är avsett som ett hjälpmedel vid diagnos och övervakning av infektion med BK-virus tillsammans med andra kliniska fynd och laboratoriefynd.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Humant helblod som samlats in i sterila blodprovtagningrör som innehåller EDTA som antikoagulationsmedel eller i plasmaberedningsrör (Plasma Preparation Tubes, PPT) får användas för beredning av plasma, medan serum ska samlas i serumuppsamlingsrör eller serumseparationsrör (Serum Separation Tubes, SST). För att testa ett urinprov tas ett urinprov i en standardbägare för urinprov utan tillsatser eller konserveringsmedel. För att förbereda för testning laddas plasma/serum eller urin i ett primärt eller sekundärt provrör som är kompatibelt med NeuMoDx™ System i NeuMoDx™ System med hjälp av en dedikerad provrörscarrier för att påbörja automatiserad bearbetning. För plasma-/serumprover blandas en 550 µL alikvot av provet med NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 från instrumentet, eller alternativt blandas en 100 µL alikvot med plasma-/serumprovet med NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. För urinprover blandas en 550 µL alikvot av provet med NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 från instrumentet. NeuMoDx™ System utför automatiskt alla steg som krävs för att extrahera målnukleinsyra, bereda det isolerade DNA:t för realtids-PCR-amplifiering och, i förekommande fall, amplifiera och detektera amplifieringsprodukterna. NeuMoDx™ BKV Quant Assay innehåller en DNA-provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1) för att underlätta övervakning beträffande närvaro av potentiella hämmande substanser samt NeuMoDx™ System eller reagensfel som kan uppstå under extraktions- och amplifieringsprocessen.

BK-polyomavirus (BKV) tillhör Polyomaviridae-familjen med dubbelsträngade DNA-virus (double-stranded DNA, dsDNA). BKV orsakar en vanlig barninfektion utan större kliniska konsekvenser och >80 % av alla vuxna är seropositiva för BKV.¹ Primär infektion med det här dsDNA-viruset är generellt sett asymtomatiskt och uppstår under barndomen. De vanligaste symptomen, när de uppmärksammas, är feber och en icke-specifik övre luftvägsinfektion.² Efter att primär infektion har uppstått kan viruset kvarstå latent på flera platser, särskilt i njurarna. Smitta kan ske genom exponering för kroppsvätskor. Vid relativ eller absolut immunbrist kan viruset återaktiveras och orsaka sjukdom.²

PCR-baserad kvantifiering av viral belastning i plasma/serum och urin är det standardmässiga kliniska verktyget för att övervaka återaktivering av BKV. Studier som rapporterar kvantitativa BKV PCR-resultat uppvisar en positiv korrelation mellan högre virala belastningar och en ökad sannolikhet att utveckla BKV-associerad nefropati (BKVAN)¹. Andra kliniska verktyg som används för att beskriva BKV-aggregat i urin är elektronmikroskopi som visar tredimensionella BKV-aggregat. Analysen är dock inte praktisk för rutinmässig klinisk användning på grund av kostnaden och begränsad tillgänglighet för elektronmikroskop.¹

PRINCIPER FÖR RUTINEN

NeuMoDx™ BKV Quant Assay på NeuMoDx™ System använder sig av NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, NeuMoDx™ BKV External Control Kit, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, NeuMoDx™ Lysis Buffer 2, NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 och NeuMoDx™ reagenser för allmänt bruk för att utföra analysen. Förvaringstemperaturen för reagenserna är +15/+30 °C.

NeuMoDx™ BKV Quant Assay kombinerar automatisk DNA-extraktion, amplifiering och detektering med realtids-PCR. Prover med plasma/serum eller urin i NeuMoDx™ System-kompatibla primära eller sekundära provrör placeras i en provrörscarrier vilken sedan laddas i NeuMoDx™ System för bearbetning. Inga andra användaråtgärder behövs.

NeuMoDx™ Systems använder en kombination av värme, lytiskt enzym och extraktionsreagenser för automatisk cellysning, DNA-extraktion och avlägsnande av hämmare. De frigjorda nukleinsyrorna fångas upp av paramagnetiska partiklar. Partiklarna med de bundna nukleinsyrorna, laddas i NeuMoDx™ Cartridge där obundna, icke-DNA-komponenter tvättas bort ytterligare med NeuMoDx™ Wash Reagent och den bundna DNA elueras med hjälp av NeuMoDx™ Release Reagent. NeuMoDx™ Systems använder det eluerade DNA:t för att rehydrera Sentinel CH. Patenterade frystorkade amplifieringsreagenser (STAT-NAT™-teknik) som innehåller alla komponenter som behövs för PCR-amplifiering av de BKV-specifika målen och SPC1-målen. Efter rekonstituering av de frystorkade PCR-reagenserna dispenserar NeuMoDx™ System den beredda PCR-klara blandningen i en NeuMoDx™ Cartridge. Amplifiering och detektion av kontroll- och mål-DNA-sekvenser (i förekommande fall) sker i PCR-kammardelen i NeuMoDx™ Cartridge. NeuMoDx™ Cartridge är även utformad som behållare för amplikonen efter realtids-PCR, vilket praktiskt taget eliminerar risken för kontaminering efter amplifiering.

De amplifierade målen detekteras i realtid med hjälp av hydrolyspromkemi (kallas allmänt för TaqMan®-kemi) med hjälp av fluorogen oligonukleotid-probmolekyler som är specifika för amplikon för respektive mål.

TaqMan®-prober består av en fluorofor kovalent bunden till 5'-ändan av oligonukleotidproben och en quencher vid 3'-ändan. När proben är intakt är fluoroforen och quenchern nära varandra, vilket leder till att quenchermolekylen binder den fluorescens som fluoroforen emitterar via FRET (Förster resonansenergiöverföring).

TaqMan®-prober är konstruerade så att de hybridiseras inom en DNA-region som är amplifierad av en viss uppsättning primrar. Allteftersom Taq DNA-polymeraset förlänger primern och syntetiserar den nya strängen så degraderar 5' till 3' exonukleasaktiviteten för Taq DNA-polymeraset proben som har fäst till mallen. Degradering av proben frigör fluoroforen från den och bryter den nära bindningen till quenchern och överviner dämpningseffekten genom FRET och gör det möjligt att detektera fluoroforens fluorescens. Den resulterande fluorescenssignalen som detekteras i NeuMoDx™ System kvantitativ PCR-termocykel är direkt proportionerlig till den frigjorda fluoroforen och kan korreleras med mängd förekommande mål-DNA.³

TaqMan®-prober märkta med fluoroforer vid 5'-ändan och quenchers vid 3'-ändan används för att detektera BKV DNA och SPC1 DNA. NeuMoDx™ System-programvaran övervakar den fluorescens signal som TaqMan-proberna emitterar i slutet av varje amplifieringscykel. Efter avslutad amplifiering analyserar NeuMoDx™ System-programvaran data och rapporterar ett slutresultat (POSITIVE (Positivt) / NEGATIVE (Negativt) / INDETERMINATE (Obestämt) / UNRESOLVED (Olöst) / NO RESULT (Inget resultat)). Om resultatet är positivt och den beräknade koncentrationen ligger inom kvantifieringsgränserna, ger NeuMoDx Systems programvara också ett kvantitativt värde som associeras med provet.

REAGENSER/FÖRBRUKNINGSVAROR

Material som medföljer

REF	Innehåll	Enheter per förpackning	Tester per enhet	Tester per förpackning
201800	NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip <i>Frystorkade PCR-reagenser med BKV-specifika TaqMan®-prober och -primrar samt SPC1-specifik TaqMan®-prob och -primrar.</i>	6	16	96

Reagenser och förbrukningsvaror som krävs men inte medföljer (tillgängligt separat från NeuMoDx)

REF	Innehåll
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Torkade paramagnetiska partiklar, lytiska enzymer och provprocesskontroller</i>
800600	NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit <i>BKV höga och låga torkade kalibratorer för engångsbruk, för fastställning av standardkurvas giltighet</i>
900601	NeuMoDx™ BKV External Control Kit <i>BKV positiva torkade kontroller och negativa kontroller för engångsbruk, för daglig fastställning av validiteten hos NeuMoDx BKV Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400500	NeuMoDx™ Lysis Buffer 2
400900	NeuMoDx™ Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Hamilton CO-RE-spetsar (300 µL) med filter
235905	Hamilton CO-RE-spetsar (1000 µL) med filter

Instrument som behövs

NeuMoDx™ 288 Molecular System [REF 500100] eller NeuMoDx™ 96 Molecular System [REF 500200]

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip är enbart avsedd för *in vitro*-diagnostisk användning tillsammans med NeuMoDx™ System.
- Läs alla instruktioner i kitets bipacksedel innan du utför testet.
- Använd inte reagenser eller förbrukningsvaror efter det angivna utgångsdatumet.
- Använd inte reagenser om förseglingen är bruten eller om förpackningen är skadad vid leverans.

- Använd inte förbrukningsvaror eller reagenser om skyddspåsen är öppen eller trasig vid leverans.
- Blanda inte ihop reagenser för amplifiering från andra kommersiella kit.
- Får ej återanvändas
- Skydda alla NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips från ljus och fukt i deras aluminiumpåsar.
- En giltig testkalibrering (skapas genom bearbetning av höga och låga kalibratorer från NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit REF 800600) måste finnas tillgänglig innan testresultat kan genereras för kliniska prover.
- NeuMoDx™ BKV External Control Kit (REF 900601) måste bearbetas var 24:e timme under testning med NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- Minsta provvolym är beroende av rörstorlek, provcarrier och provvolymbearbetning enligt nedan. Volymen som är mindre än den minsta provvolymen kan leda till felet "Quantity Not Sufficient" (otillräcklig mängd).
- BKV-testning av prover som lagrats i fel temperatur eller längre tid än den föreskrivna kan leda till ogiltiga eller felaktiga resultat om NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip används.
- Undvik kontaminering med mikrober eller deoxyribonukleas (DNase) av alla reagenser och förbrukningsvaror. Användning av sterila, DNase-fria överföringspipetter för engångsbruk rekommenderas vid användning av sekundära provrör. Använd en ny pipett för varje prov.
- Undvik att hantera eller bryta isär någon NeuMoDx™ Cartridge efter amplifiering för att undvika kontamination. Plocka inte upp någon NeuMoDx™ Cartridge från behållaren för biologiskt avfall (NeuMoDx™ 288 Molecular System) eller tunnan för biologiskt avfall (NeuMoDx™ 96 Molecular System) under några omständigheter. NeuMoDx™ Cartridge är utformad för att förebygga kontaminering.
- Om PCR-tester med öppna rör även utförs av laboratoriet ska åtgärder vidtas för att säkerställa att NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, ytterligare förbrukningsvaror och reagenser som behövs för testning, personlig skyddsutrustning som handskar och labbrockar och NeuMoDx™ System inte är förorenade.
- Rena, puderfria nitrilhandskar ska bäras vid hantering av alla NeuMoDx™-reagenser och förbrukningsvaror. Iakttag försiktighet så du inte vidrör ovansidan av NeuMoDx™ Cartridge, folieförseglingen till NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, NeuMoDx™ Extraction Plate eller ovansidan av NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 och 5-behållare; ta endast i sidorna när förbrukningsvaror och reagenser hanteras.
- Säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) medföljer varje reagens (i tillämpligt fall) på www.neumodx.com/client-resources.
- Det lodräta fältet i textens marginal indikerar ändringar jämfört med tidigare bruksanvisning.
- Tvätta händerna noga när testet har utförts.
- Pipettera inte med munnen. Rök, drick eller ät inte i områden där prover eller reagenser hanteras.
- Hantera alltid prover som om de är smittbärande och i enlighet med säkra laboratorierutiner som de som beskrivs i OSHA Standard on Bloodborne Pathogens⁴ (standard för blodburna patogen), Biosafety Level 2⁵ (biosäkerhetsnivå 2) eller andra lämpliga biosäkerhetsrutiner^{6,7} bör användas för material som innehåller eller misstänks innehålla potentiella smittbärare.
- Avfallshantera oanvända reagenser och avfall i enlighet med nationella, federala, regionala och lokala föreskrifter.
- Resultat från NeuMoDx™ BKV Quant Assay måste tolkas mot bakgrund av relevanta kliniska resultat och laboratorieresultat.
- Precis som med andra tester så utesluter inte negativa resultat BKV-infektion.

PRODUKTFÖRVARING, HANTERING OCH STABILITET

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips är stabila i primärförpackningen vid 15 till 30 °C inom det angivna utgångsdatumet på den omedelbara produktetiketten.
- En NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip som laddats i NeuMoDx™ System är stabil i 32 dagar. Efter den tiden instruerar NeuMoDx™ System-programvaran användaren att ta ut de testresor som varit i bruk i NeuMoDx™ System i mer än 32 dagar. Nya NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips måste laddas i NeuMoDx System (ta ut dem från påsen). Ta inte bort aluminiumpåsen från remsan vid laddning i NeuMoDx System.
- NeuMoDx™-kalibratorer och kontroller är inte smittsamma, men ska kasseras som biologiskt avfall efter användning eftersom de innehåller målmaterial efter bearbetning i systemet som kan orsaka kontaminering om de inte hanteras korrekt.

INSAMLING, TRANSPORT OCH LAGRING AV PROV

1. Hantera alla prover som potentiella smittbärare.
2. Frys inte prover med helblod eller plasma/serum som förvaras i primärrör.
3. Plasmaprover ska prepareras genom att helblod samlas in i sterila provrör med EDTA som antikoagulerande medel. Serumprover ska prepareras i serumseparatorrör. Urinprover ska samlas in i sterila provrör eller koppar. Följ anvisningarna från tillverkaren av provtagningsrören.
4. Helblod som samlats in i behållare enligt ovan kan lagras och/eller transporteras i upp till 24 timmar vid 2 °C till 8 °C före plasma-/serumberedningen. Provberedningen ska utföras enligt tillverkarens anvisningar.
5. Förvaring i rumstemperatur av färskt obearbetat urin ska minimeras eftersom den låga pH-halten och höga innehållet av urea snabbt denaturerar DNA, särskilt vid 25 °C och varmare.
6. Preparerade plasma-/serumprover kan förvaras i NeuMoDx™ System i upp till 24 timmar före bearbetningen. Om ytterligare förvaringstid behövs rekommenderar vi att proven antingen kyls eller infrysas som sekundära alikvoter.
7. Preparerade plasma-/serumprover ska förvaras vid 2 till 8 °C i högst 8 dagar innan de testas och högst 24 timmar i rumstemperatur.

8. Preparerade får förvaras vid ≤ -20 °C i upp till 8 veckor för plasma och 2 veckor för serum före bearbetningen. Frysning/ting av både plasma- och serumprover får utföras högst 2 gånger innan användningen:
 - a. Om proverna är frusna: Låt dem tina helt till rumstemperatur (15–30 °C) och vortexblanda så att de blir homogena.
 - b. När ett fryst prov väl har tinats ska det testas inom 24 timmar.
 - c. Frysning av plasma/serum i primära uppsamlingsrör rekommenderas inte.
9. När de bearbetats kan urinprover förvaras i 2 till 8 °C.
10. Om proverna ska skickas ska de förpackas och märkas i enlighet med gällande nationella och/eller internationella föreskrifter.
11. Märk proven tydligt och ange att de är avsedda för BKV-testning.
12. Gå vidare till avsnittet *Beredning av test*.

Hela processen för användning av NeuMoDx™ BKV Quant Assay sammanfattas i *Bild 1*.

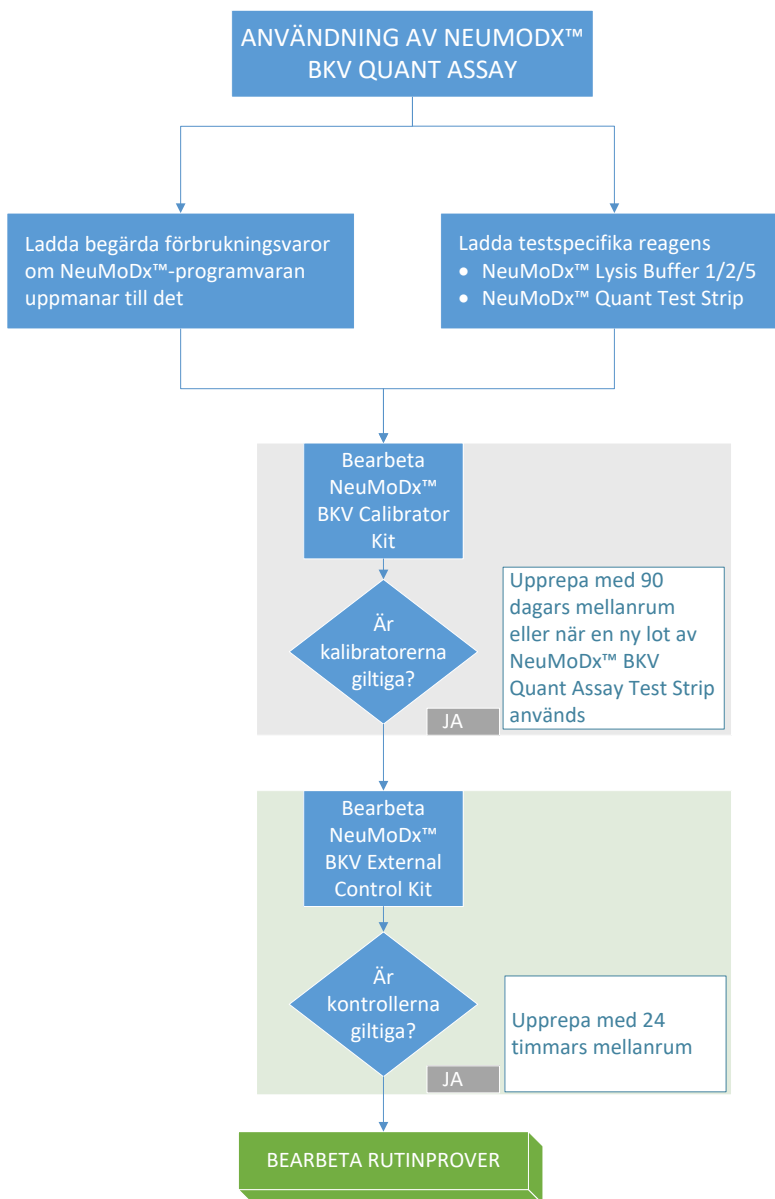


Bild 1: Arbetsflöde för användning av NeuMoDx BKV Quant Assay

BRUKSANVISNING

Beredning av test

För plasma-/serumprover kan NeuMoDx BKV Quant Assay köras direkt från primära blodprovtagningsrör eller från provalikvoter i sekundära rör. Bearbetningen kan köras med en av två arbetsflöden för bearbetning av provvolym – 550 µL provvolymarbetsflöde eller 100 µL provbearbetningsarbetsflöde. Urinprover körs enbart med 550 µL provvolymarbetsflödet.

- Fäst provstreckkodsetiketten på ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx™ System. Det primära blodprovvröret kan märkas och placeras direkt i en 32-rörs provrörscarrier efter centrifugering enligt tillverkarens anvisningar.
- Om du testar plasma-/serumprovet i det primära provvröret ska provvröret med streckkodsetiketten placeras i en carrier. Kontrollera att locket har avlägsnats innan du laddar provvröret på NeuMoDx System. Minimivolymer **över** gel-/buffy-skiktet definieras nedan och kommer att uppfyllas om prover samlas in och behandlas enligt rörtillverkarens anvisningar. Prestandan garanteras inte för prover som samlas in på fel sätt.

Blodprovtagning Provrörstyp	Minsta provvolym som krävs	
	550 µL arbetsflöde	100 µL arbetsflöde
SST – 3,5 mL	1550 µL	1150 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 µL	1400 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 µL	2150 µL
K ₂ EDTA/Serum – 4,0 mL	1050 µL	650 µL
K ₂ EDTA/Serum – 6,0 mL	1250 µL	850 µL
K ₂ EDTA/Serum – 10,0 mL	1600 µL	1200 µL

- För urinprov eller plasma-/serumprov i ett sekundärrör, överför en aliquot av provet till det streckkodsmärkta provvröret som är kompatibelt med NeuMoDx System enligt de volymer som anges nedan:

Provrörscarrier	Rörstorlek	Minsta provvolym som krävs	
		550 µL arbetsflöde	100 µL arbetsflöde (Endast plasma/serum)
32-Tube Specimen Tube Carrier (Provrörscarrier för 32 provrör)	11–14 mm diameter med 60–120 mm höjd	700 µL	350 µL
24-Tube Specimen Tube Carrier (Provrörscarrier för 24 provrör)	14,5–18 mm diameter med 60–120 mm höjd	1100 µL	750 µL
Low Volume Specimen Tube Carrier (Provrörscarrier för lågvolymsprovrör)	1,5 ml mikrocenrifugrör med konisk botten	650 µL	250 µL

Användning av NeuMoDx System

Se operatörshandboken till NeuMoDx™ 288 och 96 Molecular Systems för utförliga anvisningar (art.nr 40600108 och 40600317)

- Ladda testordern i NeuMoDx System enligt önskad prov- och provrörstyp:
 - 550 µL provvolym testas genom att definiera provtyp som "Plasma", "Serum" eller "Urine" (urin)
 - 100 µL provvolym testas genom att definiera provtypen som "Plasma2" eller "Serum2"
 - Om det inte har definierats i testordern kommer provtypen **Plasma** i ett **Secondary Tube** (sekundärt rör) att användas som standard.
- Skär upp aluminiumpåsarna med NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip vid den punkt som visas av de laterala skårorna.
- Ta bort remsorna från påsarna omedelbart innan användning.
- Innan du använder påsarna, se till att de är väl förseglade och att påsen med torkmedel ligger i. Använd enbart förpackningar som inte är skadade.
- Kassera aluminiumpåsarna med innehåll om påsen med torkmedel ändrat färg från orange till grönt.
- Populera en eller flera NeuMoDx™ System testremse-carriers med NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip och använd pekskärmen för att ladda testremse-carrier i NeuMoDx™ System.
- Om du uppmanas till det av NeuMoDx™ System-programvaran ska nödvändiga förbrukningsvaror tillsättas i NeuMoDx™ System-carrier för förbrukningsvaror och använd pekskärmen för att ladda carrier i NeuMoDx™ System.

8. När programvaran för NeuMoDx™ System uppmanar detta ska du ersätta NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, tömma primningsavfallet, behållaren för biologiskt avfall (endast NeuMoDx 288 Molecular System), behållaren för spetsavfall (endast NeuMoDx 96 Molecular System) eller behållaren för biologiskt avfall (endast NeuMoDx 96 Molecular System), enligt uppmaningen.
9. Om programvaran i NeuMoDx™ System uppmanar till det, bearbeta Calibrators (REF 800600) och/eller External Controls (REF 900601) efter behov. Mer information om kalibratorer och kontroller finns i avsnittet *Bearbetning av resultat*.
10. Ladda provrören med prov/kalibrator/kontroll i en vanlig carrier för 32 provrör. Se till att alla lock är borttagna från provrören.
11. Sätt provrörscarriern på en ledig plats på Autoloader-hyllan och använd pekskärmen för att ladda carriern i NeuMoDx™ System. Detta startar bearbetningen av de laddade proverna för de identifierade testerna. Förutsatt att en giltig testbeställning finns i systemet.

BEGRÄNSNINGAR

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip kan bara användas i NeuMoDx™ System.
- Prestandan för NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip har fastställts för plasma- och serumprover som beretts från helblod som samlats in med EDTA som antikoagulant och för urinprover. Användning av NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip med andra kliniska provtyper har inte utvärderats och prestandaegenskaperna för testet är okända för andra provtyper.
- En liten ökning av detektionsgränsen och den lägre kvantifieringsgränsen för NeuMoDx BKV Quant Assay har observerats vid användning av 100 µL provvolymarbetsflödet.
- NeuMoDx BKV Quant Assay får inte användas med prover från hepariniserade människor.
- Eftersom detektion av BKV är beroende av antalet organismer i provet är pålitliga resultat beroende av att provet samlas in, hanteras och lagras på korrekt sätt.
- Kalibratorer och externa kontroller måste behandlas enligt rekommendationerna i bipacksedlarna och uppmaningarna i NeuMoDx™ System-programvaran innan kliniska prover rutinbearbetas.
- Felaktiga resultat kan uppstå vid felaktig insamling, hantering, lagring, tekniska fel eller felidentifiering av provrör. Dessutom kan felaktigt negativa resultat bli följden eftersom antalet viruspartiklar i provet ligger under den analytiska sensitiviteten hos NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- NeuMoDx™ System får bara användas av personal som utbildats inom användning av NeuMoDx™ System.
- Om både BKV-målet och SPC1-målen inte amplificeras rapporteras ett ogiltigt resultat (Indeterminate (obestämt), No Result (inget resultat) eller Unresolved (olöst)). Då ska testet upprepas.
- Om NeuMoDx™ BKV Quant Assay är Positive (positivt) men kvantifieringsvärdet är utanför kvantifieringsgränserna, så rapporterar NeuMoDx™ System om detekterad BKV var under lägre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller över övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Om detekterad BKV var under LLoQ kan analysen med NeuMoDx™ BKV Quant Assay upprepas (om så önskas) med en annan alikvot av provet.
- Om detekterad BKV var över ULoQ ska analysen upprepas med NeuMoDx™ BKV Quant Assay och en utspädd alikvot av originalprovet. Vi rekommenderar en spädning på 1:1 000 i BKV-negativ plasma eller BaseMatrix 53 Diluent (BaseMatrix) (SeraCare, Milford, MA). Koncentrationen i det ursprungliga provet kan beräknas enligt följande:

$$\text{Ursprunglig provkoncentration} = \log_{10}(\text{spädningsfaktor}) + \text{rapporterad koncentration av det utspädda provet.}$$

- Sporadisk förekomst av PCR-hämmare i plasma/serum eller urin kan orsaka ett kvantifieringsfel i systemet. I så fall rekommenderar vi att testet upprepas med samma prov utspädd i BaseMatrix i spädningen 1:10 eller 1:100.
- Ett positivt testresultat indikerar inte nödvändigtvis förekomsten av levande organismer. Snarare tyder ett positivt resultat på förekomst av BKV DNA.
- Borttagningar eller mutationer i de bevarade regionerna som är mål för NeuMoDx™ BKV Quant Assay kan påverka detekteringen eller ge upphov till felaktiga resultat med NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Resultat från NeuMoDx™ BKV Quant Assay ska användas som komplement till kliniska observationer och övrig information som är tillgänglig för läkaren. Testet är inte avsett för diagnostisering av infektioner.
- God labororiesed inklusive att byta handskar mellan hantering av patientprover rekommenderas för att undvika kontaminering.

BEARBETNING AV RESULTAT

Tillgängliga resultat kan visas eller skrivas ut från fliken "Results" (Resultat) i fönstret Results (Resultat) på NeuMoDx™ System-pekskärmen.

Resultatet från NeuMoDx™ BKV Quant Assay genereras automatiskt av programvaran i NeuMoDx™ System med beslutsalgoritmen och de resultatbearbetningsparametrar som angetts i analysdefinitionsfilen till NeuMoDx™ BKV (BKV Assay Definition File, BKV ADF). Ett NeuMoDx™ BKV Quant Assay-resultat kan rapporteras som Negative (negativt), Positive (positivt) med en rapporterad BKV-koncentration, Positive (positivt) över ULoQ, Positive (positivt) under LLoQ, Indeterminate (obestämt, IND) eller Unresolved (olöst, UNR) eller No Result (Inget resultat, NR) baserat på amplifieringsstatus för målet och provbearbetningskontrollen. Resultaten rapporteras baserat på beslutsalgoritmen som sammanfattas nedan i *Tabell 1*.

Tabell 1: Sammanfattning av beslutsalgoritmen för NeuMoDx BKV Quant Assay

Resultat	BKV	Provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1)	Resultattolkning
Positive (positivt) med rapporterad koncentration	Amplified (amplifierad) 1,3 ≤ [BKV] ≤ 8,0 log ₁₀ IE/mL (550 µL arbetsflöde)* 2,3 ≤ [BKV] ≤ 8,0 log ₁₀ IE/mL (100 µL arbetsflöde)*	Amplified (amplifierad) eller Not amplified (ej amplifierad)	BKV DNA detekterat inom kvantitativt intervall
Positive (positivt) ovanför övre kvantifieringsgräns [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]	Amplified (amplifierad) [BKV] >8,0 log ₁₀ IE/mL	Amplified (amplifierad) eller Not amplified (ej amplifierad)	BKV DNA detekterat över kvantitativt intervall
Positive (positivt) under lägre kvantifieringsgräns [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]	Amplified (amplifierad) [BKV] <1,3 log ₁₀ IE/mL (550 µL arbetsflöde)* [BKV] <2,3 log ₁₀ IE/mL (100 µL arbetsflöde)*	Amplified (amplifierad) eller Not amplified (ej amplifierad)	BKV DNA detekterat under kvantitativt intervall
Negative (negativ)	Not amplified (ej amplifierad)	Amplified (amplifierad)	BKV DNA har inte detekterats
Indeterminate (obestämt)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes, Provbearbetning slutförd)		Alla målresultat var ogiltiga – testa om provet†
No Result (inget resultat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes, Provbearbetning avbruten)		Provbearbetning avbröts; omtest av prov†
Unresolved (olöst)	Not Amplified, No System Error Detected (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes inte)		Alla målresultat var ogiltiga – testa om provet†

*550 µL arbetsflödet används med prover av plasma/serum och urin. 100 µL arbetsflödet används endast med prover av plasma/serum.

†NeuMoDx System har utrustats med en automatisk funktion för Rerun (Omkörning)/Repeat (Upprepning) som slutanvändaren kan välja att använda för att säkerställa att resultatet IND (Obestämt)/NR (Olöst)/UNR (Inget resultat) bearbetas om automatiskt och därmed minska förseningar av resultatrapportering.

Testberäkning

- För prover inom kvantifieringsintervallet för NeuMoDx™ BKV Quant Assay så beräknas koncentrationen av BKV DNA i proverna med hjälp av den lagrade standardkurvan tillsammans med kalibreringskoefficienten och provvolymen.
 - En kalibreringskoefficient beräknas utifrån resultatet av NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit som bearbetats för att fastställa standardkurvas giltighet för en viss lot av NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip i ett specifikt NeuMoDx™ System.
 - Kalibreringskoefficienten räknas in i den slutliga bestämningen av koncentrationen av BKV DNA.
 - NeuMoDx Software står för provets indatavolym vid bestämning av koncentrationen av BKV DNA per mL prov.
- Resultaten av NeuMoDx™ BKV Quant Assay rapporteras i log₁₀ IE/mL.
- Den resulterande kvantifieringen för de okända proverna kan spåras till Världshälsoorganisationens första internationella standard för BK-virus (BKV) (14/212)⁹.

Testkalibrering

En giltig kalibrering baserad på standardkurvan krävs för att kvantifiera BKV DNA i proven. För att resultaten ska bli giltiga måste en testkalibrering utföras med kalibratorer från NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Kalibratorer

- NeuMoDx™ BKV Calibrators tillhandahålls i ett kit (REF 800600) och består av en torkad pellet med syntetiskt BKV DNA.
- En uppsättning BKV-kalibratorer behöver bearbetas för varje ny lot med NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips, när en ny BKV-analysdefinitionsfil laddas upp i NeuMoDx™ System eller om utgångsdatum har passerat för den aktuella kalibratoruppsättningen (90 dagar) eller om programvaran i NeuMoDx™ System förändras.

3. Programvaran i NeuMoDx™ System meddelar användaren när kalibratorerna behöver bearbetas. En ny lot med testremсор kan inte användas innan kalibratorerna har bearbetats utan fel.
4. Om en ny uppsättning BKV-kalibratorer behöver bearbetas, läs instruktionerna i bipacksedeln för NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit innan du utför testet.
5. Kalibreringsvaliditeten fastställs så här:
 - a) En uppsättning med två kalibratorer – hög och låg – behöver bearbetas för att fastställa validiteten.
 - b) För att resultaten ska vara giltiga ska minst 2 av de 3 replikaten ge resultat som ligger inom de förinställda parametrarna. Det nominella målvärdet för låg kalibrator är $3 \log_{10}$ IE/mL och för hög kalibrator $5 \log_{10}$ IE/mL.
 - c) En kalibreringskoefficient beräknas för att kompensera för förväntad variation mellan testremсорter. Kalibreringskoefficienten används vid bestämningen av slutlig BKV-koncentration.
6. Om en eller bägge kalibratorer inte godkänns av validitetskontrollen så upprepar du bearbetningen av de misslyckade kalibratorerna med en ny flaska. Om en kalibrator inte valideras så går det att enbart upprepa den misslyckade kalibratorn eftersom systemet inte kräver att användaren kör bägge kalibratorerna igen.

Kvalitetskontroll

Lokala föreskrifter anger vanligen att laboratoriet är ansvarigt för kontrollrutiner som övervakar noggrannheten och precisionen i hela den analytiska processen och måste fastställa antalet, typen av och frekvensen för testning av kontrollmaterial med hjälp av prestandaspecifikationer för ett omodifierat, godkänt testsystem.

Externa kontroller

1. BKV External Controls tillhandahålls av NeuMoDx Molecular, Inc. i BKV External Control Kit (REF900601). De positiva kontrollerna innehåller en torkad pellet med syntetiskt BKV DNA.
2. Positiva och negativa externa kontroller behöver bearbetas en gång var 24:e timme. Om inga giltiga externa kontrolluppsättningar finns uppmanar NeuMoDx™ System-programvaran användaren att bearbeta dessa kontroller innan provresultat kan rapporteras.
3. Om externa kontroller krävs, förbered de positiva och negativa kontrollerna som det visas i bipacksedeln för NeuMoDx BKV External Control Kit innan du utför testet.
4. Ladda ampullerna med de positiva och negativa kontrollampullerna i NeuMoDx™ System via pekskärmen och en provrörs-carrier på Autoloader-hyllan. NeuMoDx™ System identifierar streckkoden och påbörjar bearbetning av provrören, förutsatt att lämpliga reagenser eller förbrukningsvaror som krävs för testning är tillgängliga.
5. Giltigheten för externa kontroller analyseras av NeuMoDx™ System baserat på det förväntade resultatet. Den positiva kontrollen ska ge ett BKV Positive (positivt) resultat och den negativa kontrollen ett BKV Negative (negativt) resultat.
6. Gör så här om resultaten för externa kontroller avviker från varandra:
 - a) Testresultatet Positive (positivt) som rapporteras för ett negativt kontrollprov indikerar att provet är kontaminerat.
 - b) Testresultatet Negative (negativt) som rapporteras för ett positivt kontrollprov kan indikera att det finns problem med reagenser eller instrumentet.
 - c) I endera av ovanstående instanser eller vid ett Indeterminate (obestämt, IND) resultat eller No Result (inget resultat, NR), upprepa de misslyckade NeuMoDx™ BKV External Control(s) som misslyckades med valideringen.
 - d) Om den positiva NeuMoDx™ BKV External Control återigen ger resultatet Negative (negativt) ska du kontakta kundtjänsten hos NeuMoDx™.
 - e) Om den negativa NeuMoDx™ BKV External Control återigen ger resultatet Positive (positivt): Försök eliminera alla potentiella kontamineringskällor, bland annat genom att byt alla reagenser innan du kontaktar den tekniska supporten hos NeuMoDx™.

Provbearbetning av (interna) kontroller

En exogen probbearbetningskontroll (Sample Process Control, SPC1) inkluderas i NeuMoDx™ Extraction Plate och genomgår hela processen med nukleinsyraextraktion och realtids-PCR-amplifiering med varje prov. SPC1-specifika primrar och prob inkluderas också i varje NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip. Därmed kan förekomsten av SPC1 detekteras tillsammans med BKV mål-DNA (i förekommande fall) via multiplex realtids-PCR. Detektering av SPC1-amplifiering gör att programvaran i NeuMoDx™ System kan övervaka effektiviteten hos DNA-extraktions och PCR-amplifieringsprocesserna.

Ogiltiga resultat

Om en NeuMoDx™ BKV Quant Assay som utförs i NeuMoDx™ System inte ger ett giltigt resultat efter att probbearbetningen har slutförts rapporteras det som antingen Indeterminate (obestämt) (IND), No result (inget resultat) (NR) eller Unresolved (olöst) (UNR) baserat på typen av fel som uppstod.

Ett IND-resultat (obestämt) rapporteras om ett NeuMoDx™ System-fel upptäckts under probbearbetningen. Om ett IND-resultat (obestämt) rapporteras rekommenderas ett omtest.

Ett UNR-resultat (olöst) rapporteras om ingen giltig amplifiering av BKV DNA eller SPC1 identifieras, vilket indikerar ett möjligt reagensfel eller att det finns hämmare. Om ett UNR-resultat (olöst) rapporteras kan ett omtest genomföras som första steg. Om även omtestet misslyckas kan ett utspätt prov användas för att lindra effekterna av eventuell provhämning.

Om en NeuMoDx BKV Quant Assay som utförts på NeuMoDx System inte ger ett giltigt resultat och probbearbetningen avbryts innan den slutfördes kommer den att rapporteras som No Result (inget resultat, NR). Om ett NR-resultat (inget resultat) rapporteras rekommenderas ett omtest.

PRESTANDAEGENSKAPER

Analytisk sensitivitet – Detektionsgräns¹²

Den analytiska sensitiviteten för NeuMoDx™ BKV Quant Assay karakteriserades genom att testa en spädningsserie från EDX BKV Verification Panel (Exact Diagnostics), som kalibrerats mot Världshälsoorganisationens första internationella standard för BK-virus (BKV) (14/212)⁹, i BKV-negativa prover med plasma/serum och urin för att fastställa detektionsgränsen (Limit of Detection, LoD) på NeuMoDx Systems. För plasma/serum (550 µL) och urin, definierades LoD som den närmaste experimentellt fastställda målnivå ovanför den koncentration som fastställts av Probit-analys med ett konfidensintervall (Confidence Interval, CI) på 95 %. För plasma/serum (100 µL) utreddes en enda provkoncentration på 200 IE/mL genom träffrekvensanalys och validerades för LoD om detektionsnivån var över 95 %. Undersökningen utfördes i tre dagar med flera system med flera loter NeuMoDx™-reagenser. Varje system bearbetade 42 replikat vid varje spädningsnivå (positiva prover) och 8 replikat för negativa prover per dag. Detektionsnivåerna visas i *Tabell 2 och 3*.

Tabell 2: Positiva detektionsnivåer för LoD-bestämning av NeuMoDx BKV Quant Assay (Plasma/Serum 550 µL och urin)

Målkoncentration [IE/mL]	Målkoncentration [\log_{10} IE/mL]	PLASMA/SERUM 550 µL arbetsflöde			URIN		
		Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå	Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå
50	1,70	41	41	100%	41	41	100%
20	1,30	42	42	100%	40	39	98%
10	1,00	41	35	85%	41	31	76%
5	0,30	41	16	39%	41	12	29%
NEG	0,00	20	0	0%	24	0	0%

Tabell 3: Positiva detektionsnivåer för LoD-bestämning av NeuMoDx BKV Quant Assay (Plasma/Serum 100 µL)

Målkoncentration [IE/mL]	Målkoncentration [\log_{10} IE/mL]	PLASMA/SERUM 100 µL arbetsflöde		
		Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå
200	2,30	89	88	99%

LoD för NeuMoDx™ BKV Quant Assay i plasma/serum (550 µL arbetsflöde) bestämdes till 20 IE/mL (1,3 \log_{10} IE/mL) med ett 95 % konfidensintervall (Confidence Interval, CI) på 11,03; i urin bestämdes LoD till 20,0 IE/mL (1,3 \log_{10} IE/mL) med ett konfidensintervall (Confidence Interval, CI) på 95 % på 13,09; i plasma/serum (100 µL arbetsflöde) bestämdes LoD till 200 IE/mL (2,3 \log_{10} IE/mL).

Analytisk sensitivitet – lägre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) och övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

Den lägre kvantifieringsgränsen (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) och den övre kvantifieringsgränsen (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) definieras som den lägsta målnivån och den övre målnivån där >95 % detektion uppnås och TAE ≤ 1,0. För att fastställa LLoQ och ULoQ beräknades det totala analytiska felet (Total Analytical Error, TAE) för var och en av målnivåerna för BKV som rapporterade >95 % detektion. Det totala analytiska felet definieras enligt följande:

$$TAE = \text{bias} + 2 * SD \text{ [Westgard Statistic]}$$

Bias är absolutvärdet för skillnaden mellan medelvärdet av den beräknade koncentrationen och den förväntade koncentrationen. SD avser standardavvikelsen för det kvantifierade värdet för provet.

Sammanställda resultat för de 5 nivåerna av BKV plasma-/serum- eller urinprover som används i LLoQ/UloQ-studien visas i *Tabell 4. och 5*. Baserat på den här datauppsättningen och tidigare bestämd LoD, bestämdes LLoQ och ULoQ vara 20 IE/mL (1,3 \log_{10} IE/mL) och 7,58x10⁷ IE/mL (här ungefär 8 \log_{10} IE/mL), för plasma/serum 550 µL och urin respektive 200 IE/mL (2,3 \log_{10} IE/mL) för plasma/serum 100 µL.

Tabell 4: NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ULoQ och LLoQ, med Bias och TAE (plasma/serum 550 µL och urin)

Målkonc. [IE/mL]	Målkonc. [\log_{10} IE/mL]	Plasma/serum 550 µL					Urin				
		Snittkonc. [\log_{10} IE/mL]	Detektion (%)	SD	Bias	TAE	Snittkonc. [\log_{10} IE/mL]	Detektion (%)	SD	Bias	TAE
7,58x10 ⁷	8	8	100	0,09	0,05	0,23	8	100	0,09	0,10	0,29
50	1,70	1,80	100	0,18	0,10	0,46	1,84	100	0,22	0,14	0,59
20	1,30	1,56	100	0,25	0,26	0,76	1,66	100	0,29	0,36	0,93
10	1,00	1,46	85	0,27	0,46	1,01	1,41	85%	0,41	0,41	1,22
5	0,30	1,27	39	0,48	0,97	1,92	1,31	38%	0,52	1,01	2,04

Tabell 5: NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ULoQ och LLoQ, med Bias och TAE (plasma/serum 100 µL)

Målkonc. [IE/mL]	Målkonc. [log ₁₀ IE/mL]	Plasma/serum 100 µL				
		Snittkonc. [log ₁₀ IE/mL]	Detektion (%)	SD	Bias	TAE
7,58x10 ⁷	8	8	100	0,09	0,07	0,25
200	2,30	2,30	99	0,39	0,003	0,78

Baserat på utfallet av de här studierna, bestämdes LoD och LLoQ för NeuMoDx™ BKV Quant Assay till 20 IE/mL (1,3 log₁₀ IE/mL) för plasma/serum och urin med 550 µL arbetsflödet och 200 IE/mL (2,30 log₁₀ IE/mL) för plasma/serum vid användning av 100 µL arbetsflödet. ULoQ för alla provtyper är 7,58x10⁷ IE/mL (8 log₁₀ IE/mL).

Linjäritet¹³

Linjäriteten för NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip fastställdes i plasma/serum och urin genom preparering av en spädningsserie med BKV Synthetic Plasmid (Integrated DNA Technologies) med etablerad spårbarhet till Världshälsoorganisationens första internationella standard för BK-virus (BKV) (14/212)⁹. 11 seriella spädningar av BKV Synthetic Plasmid, preparerade i BKV negativ BaseMatrix 53 eller poolat BKV-negativt humant urin, skapades för att sträcka sig över ett koncentrationsintervall på 7,88–1,58 log₁₀ IE/mL för plasma/serum 550 µL och urin och ett koncentrationsintervall på 6,88–2,88 log₁₀ IE/mL för plasma/serum 100 µL.

De BKV-analyskoncentrationer som rapporterats av NeuMoDx™ System jämfört med förväntade värden presenteras i Bild 2, 3 och 4.

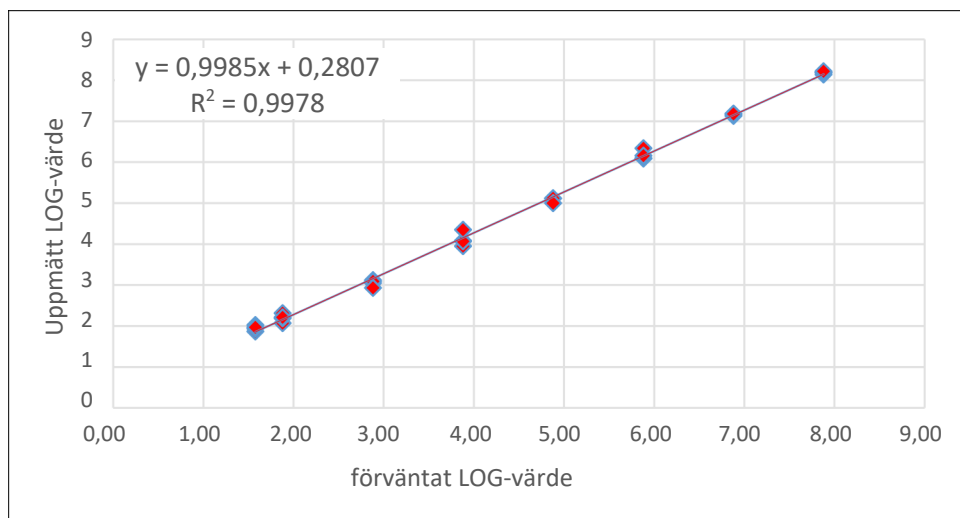


Bild 2: Linjäritet för NeuMoDx™ BKV Quant Assay för plasma/serum (550 µL arbetsflöde)

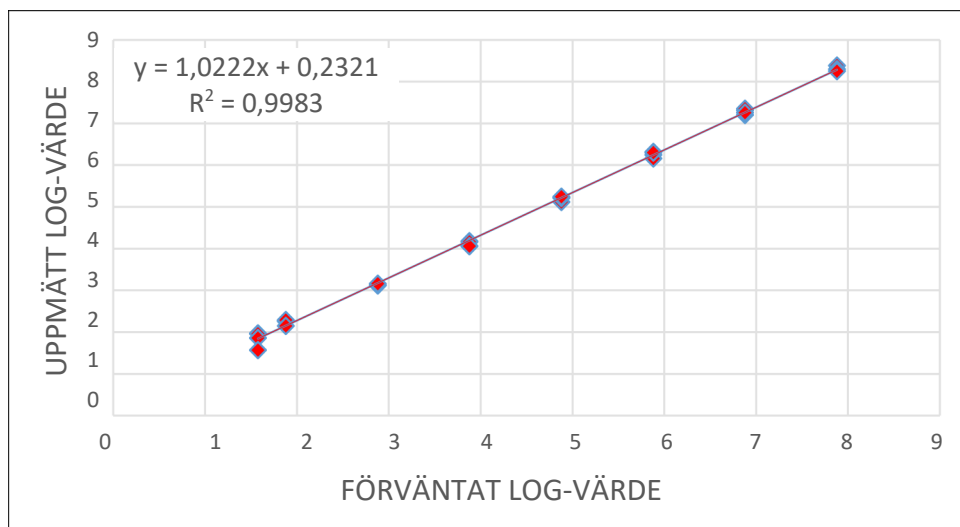


Bild 3: Linjäritet för NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip för urinprover

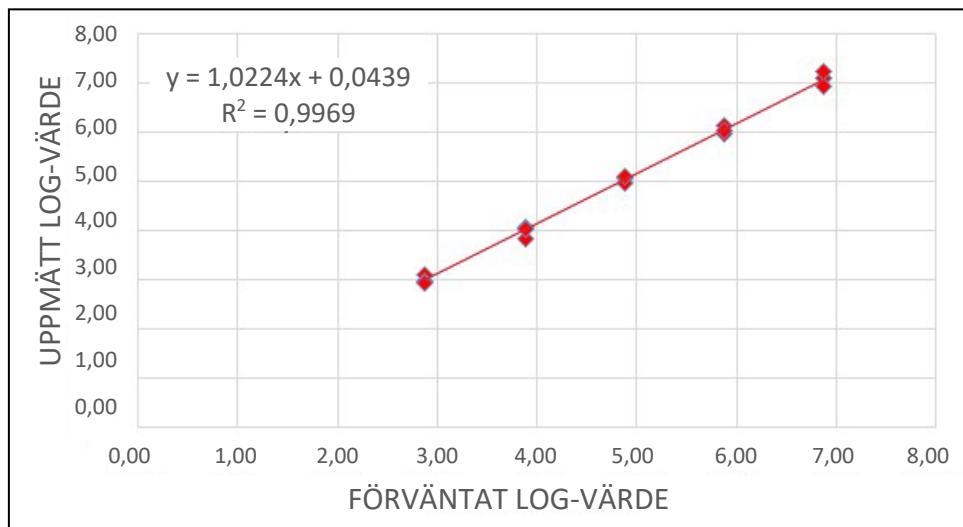


Bild 4: Linjäritet för NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip för plasma/serum (100 µL arbetsflöde)

Linjäritet över genotyper¹⁶

Linjäritet hos NeuMoDx BKV Quant Assay över tre BKV-genotyper (BK Virus Dunlop, BK Virus Gardner, BK Virus AB269822_FIN-2) karakteriserades genom testning av fyra olika koncentrationer av varje genotyp av BKV preparerat i BKV-negativ BaseMatrix 53. BK-virus S72390-genotypen uppvisar inga polymorfismer i den genmålregion som täcks av NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip. Studien utfördes genom att testa 4 replikat av var och en av 3 genotyper i 6 koncentrationer (10-faldiga spädningsserier). Linjäriteten över tre BKV-genotyper presenteras i *Tabell 6* och *Bild 5*.

Tabell 6: Linjäritet hos NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip över genotyper

Genotyp	Linjäritetsekvation $y = \text{NeuMoDx BKV Assay Ct}$ $x = \text{Spädningsserie}$	R ²
BK Virus Dunlop	$y = -3,4808x + 0,8595$	0,9926
BK Virus Gardner	$y = -3,4682x + 0,6395$	0,9959
BK Virus AB269822_FIN-2	$y = -3,432x + 1,2683$	0,9947

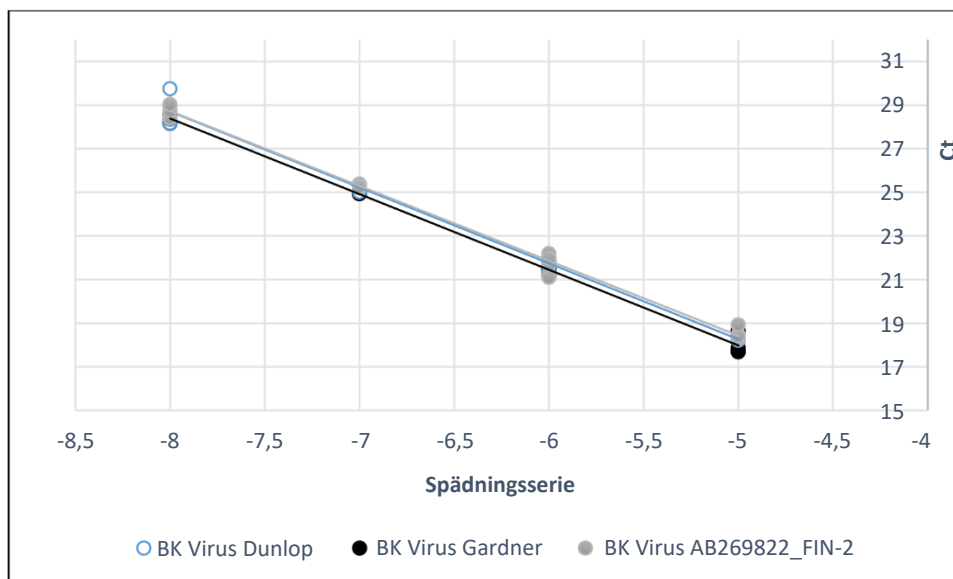


Bild 5: Linjäritet hos NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip över genotyper

Analytisk specificitet – Korsreaktivitet ^{10,11}

Analytisk specificitet demonstrerades genom screening av 22 organismer som kan finnas i prover med plasma/serum eller urin samt prover som fylogenetiskt liknar BKV i korsreaktivitetssyfte. Organismerna förbereddes i pooler på mellan 5–6 organismer vardera och testades vid hög koncentration. De testade organismerna visas i *Tabell 7*. Ingen korsreaktivitet observerades med någon av de testade organismerna vilket bekräftar en 100 % analytisk specificitet för NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Tabell 7: Patogener som används för att demonstrera analytisk specificitet

Icke-målorganismer					
HTLV-1/2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Hepatit B-virus	Adenovirus typ 5	Epstein-Barr-virus	Varicella-Zoster-virus	Hepatit C-virus
Herpes Simplex Virus typ 1	Herpes Simplex Virus typ 2	Humant herpesvirus typ-6	Humant herpesvirus typ-7	Humant herpesvirus typ-8	Humant immunbristvirus-1
Humant immunbristvirus-2	JC-virus	SV40	<i>Cytomegalovirus</i>		

Analytisk specificitet – Störande ämnen, kommensala organismer ^{10,11}

NeuMoDx™ BKV Quant Assay utvärderades för interferens vid närvaro av icke-målorganismer med samma organismpooler som beretts för korsreaktivitetstestning som listas ovan i *Tabell 7*. Negativt BKV-plasma spetsades med organismerna och poolades i grupper om 5-6; dessa pooler spetsades sedan med BKV-mål i en koncentration av 4 log₁₀ IE/mL. Ingen betydande interferens observerades i närvaron av de här kommensala organismerna vilket visas av den minimala avvikelserna i kvantifiering från kontrollproverna utan interfererande agent.

Analytisk specificitet – Störande ämnen, endogena och exogena substanser ^{10,11}

NeuMoDx™ BKV Quant Assay utvärderades vid förekomst av typiska exogena och endogena interfererande substanser som påträffas i BKV-kliniska prover med plasma/serum eller urin. Det inkluderade onormalt höga nivåer av blodkomponenter samt vanliga antivirala läkemedel, vilka klassificerats i *Tabell 8*. Varje substans tillsattes till screenad BKV-negativ Basematrix 53 humant urin som spetsades med 3 log₁₀ IE/mL BKV och proverna analyserades med avseende på interferens. Den genomsnittliga koncentrationen och bias för alla ämnen testade jämfört med kontrollprov spetsade med samma nivå BKV rapporteras i *Tabell 9*. Inga av de exogena eller endogena substanserna påverkade specificiteten hos NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Tabell 8: Interferenstestning – exogena ämnen (läkemedelsklassificeringar)

Pool	Läkemedelsnamn	Klassificering
Pool 1	Valganciclovir	ANTIVIRAL
	Prednison	IMMUNNEDSÄTTANDE
	Cidofovir	ANTIVIRAL
	Cefotaxim	ANTIBIOTIKA
	Mykofenolatmofetil	IMMUNNEDSÄTTANDE
Pool 2	Vankomycin	ANTIBIOTIKA
	Takrolimus	IMMUNNEDSÄTTANDE
	Famotidin	HISTAMINANTAGONIST
	Valacyclovir	ANTIVIRAL
	Leflunomid	IMMUNNEDSÄTTANDE

Tabell 9: Interferenstestning – exogena och endogena medel

Endogena (plasma/serum)	Snittkonc.	Bias
	log ₁₀ IE/mL	log ₁₀ IE/mL
Triglycerider 500 mg/dL	3,09	0,16
Konjugerat bilirubin (0,25 g/L)	3,09	0,16
Okonjugerat bilirubin (0,25 g/L)	3,31	-0,06
Albumin (58,7 g/L)	3,12	0,13
Hemoglobin (2,9 g/L)	3,02	0,23
Endogena (urin)	Snittkonc.	Bias
	log ₁₀ IE/mL	log ₁₀ IE/mL
Urobilirubin (>2 mg/dL)	3,74	-0,09
Glukos (1000 mg/dL)	4,00	0,04
Urin pH 4	3,75	0,29
Urin pH 10	3,77	0,27
Leukocyter (1E5 celler/mL)	3,68	-0,06
Blod 7 %	3,42	-0,32
Protein (albumin >100 mg/dL)	3,96	0,08
Talkpuder	3,92	0,12
Exogena (läkemedel)	Snittkonc.	Bias
	log ₁₀ IE/mL	log ₁₀ IE/mL
Pool 1: Valganciclovir, Prednisone, Cidofovir, Cefotaxime, Mycophenolate mofetil	4,04	-0,06
Pool 2: Vancomycin, Tacrolimus, Famotidine, Valacyclovir, Leflunomide	4,07	-0,09

Repeterbarhet och precision inom labbet¹⁴

Precisionen för NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip fastställdes genom att testa två replikat av en 5-medlemspanel med BKV-prover som preparerats med BKV-plasmid två gånger per dag, med ett NeuMoDx™ 96 System över 20 dagar. Precisionerna inom körning och inom dag karakteriserades och den totala standardavvikelsen fastställdes till $\leq 0,30 \log_{10}$ IE/mL. Utmärkt precision uppvisades mellan dagar och körningar som visas i *Tabell 10*. Precisionen mellan användare beräknades inte eftersom inte användaren spelar någon betydande roll i bearbetningen av prover med NeuMoDx™ System.

Tabell 10: Precision inom labbet – NeuMoDx BKV Quant Assay på NeuMoDx Systems

Prov	SD inom dagen (log ₁₀ IE/mL)	SD mellan dagar (log ₁₀ IE/mL)	SD inom körningar (log ₁₀ IE/mL)	SD mellan körningar (log ₁₀ IE/mL)	SD inom laboratoriet (log ₁₀ IE/mL)
Plasma-/serum-prov (inmatning 550 µL)					
RISppHIGH	0,10	0,08	0,10	0,01	0,13
RISppMIDDLE	0,14	0,10	0,11	0,06	0,17
RISppMLOW	0,22	0,12	0,21	0,02	0,25
RISppLOW	0,21	0,03	0,18	0,10	0,21
RISppNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Urinprov					
RISpuHIGH	0,16	0,10	0,11	0,12	0,20
RISpuMIDDLE	0,21	0,09	0,16	0,13	0,23
RISpuMLOW	0,14	0,12	0,13	0,02	0,18
RISpuLOW	0,29	0,05	0,25	0,13	0,30
RISpuNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Reproducerbarhet mellan loter¹⁴

Reproducerbarhet mellan loter för NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip bestämdes med tre olika loter av NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips. En 5-medlemspanel med BKV beredd med BKV-plasmid användes för att utvärdera prestanda på en NeuMoDx™ 96 Molecular System över 3 olika körningar. Variationen inom och mellan loter analyserades och resultaten uttrycks som absolut kvantifieringsbias mellan lot presenteras i *Tabell 11*. Max övergripande bias var 0,27 log₁₀ IE/mL. Likvärdig prestanda demonstrerades över loter eftersom kvantifiering av alla panelmedlemmar var inom toleransspecifikationen.

Tabell 11: Reproducerbarhet från lot till lot – NeuMoDx BKV Quant Assay

Prov	Absolut bias mellan lot.1 och lot.2 (log ₁₀ IE/mL)	Absolut bias mellan lot.1 och lot.3 (log ₁₀ IE/mL)	Absolut bias mellan lot.2 och lot.3 (log ₁₀ IE/mL)
Plasma/serum-prov (550 µL)			
7 log ₁₀ IE/mL	0,05	0,10	0,05
4 log ₁₀ IE/mL	0,02	0,03	0,05
3 log ₁₀ IE/mL	0,20	0,05	0,15
2 log ₁₀ IE/mL	0,02	0,24	0,26
0 log ₁₀ IE/mL	0,00	0,00	0,00
Urinprov (550 µL)			
7 log ₁₀ IE/mL	0,09	0,27	0,19
4 log ₁₀ IE/mL	0,25	0,06	0,19
3 log ₁₀ IE/mL	0,06	0,08	0,14
2 log ₁₀ IE/mL	0,03	0,11	0,14
0 log ₁₀ IE/mL	0,00	0,00	0,00

Reproducerbarhet mellan instrument¹⁴

Reproducerbarheten mellan instrument för NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip bestämdes med tre olika system (två NeuMoDx™ 288 Molecular System och ett NeuMoDx™ 96 Molecular System). En 5-medlemspanel av BKV preparerade med BKV-plasmid användes för att bedöma prestandan. Testningen utfördes parallellt på systemen under 5 dagar. Variationen inom dag och mellan system karakteriserades och den totala standardavvikelsen fastställdes till ≤ 0,30 log₁₀ IE/mL. Likvärdig prestanda demonstrerades över system eftersom SD i kvantifiering för alla panelmedlemmar var inom toleransspecifikationen (*Tabell 12*).

Tabell 12: Reproducerbarhet mellan instrument – NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

Prov	Repetierbarhet SD (log ₁₀ IE/mL)	SD mellan dagar (log ₁₀ IE/mL)	SD inom instrument (log ₁₀ IE/mL)	SD mellan instrument (log ₁₀ IE/mL)	SD reproducerbarhet (log ₁₀ IE/mL)
Plasma-/serum-prov (inmatning 550 µL)					
RISppHIGH	0,10	0,05	0,11	0,06	0,12
RISppMIDDLE	0,13	0,05	0,13	0,04	0,13
RISppMLOW	0,10	0,06	0,12	0,04	0,12
RISppLOW	0,12	0,05	0,13	0,04	0,13
RISppNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Urinprov					
RISpuHIGH	0,11	0,05	0,12	0,06	0,14
RISpuMIDDLE	0,10	0,01	0,10	0,05	0,11
RISpuMLOW	0,09	0,04	0,10	0,07	0,12
RISpuLOW	0,15	0,02	0,15	0,05	0,16
RISpuNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

REFERENSER

1. Ambalathingal R, Francis R S *et al.* 2017. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin Microbiol Rev* 30(2):503-528.
2. Reploeg MD, Storch GA, Clifford DB. Bk virus: a clinical review. 2001 *Clin Infect Dis.* 15;33(2):191-202.
3. Navarro E, Serrano-Heras G *et al.* 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. *Clin Chim Acta.*15;439:231-50.
4. 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>
5. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington, DC: US Government Printing Office, December 2009.
6. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
7. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
8. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—First Edition CLSI Document MM13-A. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005
9. Sheila Govind, Jason Hockley, Clare Morris, Neil Almond, Collaborative Study Group. 2019. The Development and Establishment of the 1st WHO BKV International Standard for Nucleic Acid Based Techniques. *Biologicals*; 60:75-84.
10. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
11. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
12. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
13. 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.
14. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
15. CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

VARUMÄRKEN















NeuMoDx™ är ett varumärke som tillhör NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® är ett registrerat varumärke som tillhör Roche Molecular Systems, Inc.

STAT-NAT® är ett registrerat varumärke som tillhör SENTINEL CH. S.p.A.

Alla andra produktnamn, varumärken och registrerade varumärken som förekommer i detta dokument tillhör deras respektive ägare.

SYMBOLER

SYMBOL	BETYDELSE
	Enbart med recept
	Tillverkare
	Distributör
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk produkt
	Katalognummer
	Batchkod
	Läs bruksanvisningen
	Iakttag försiktighet, läs medföljande dokumentation
	Temperaturbegränsning
	Håll torr
	Får ej återanvändas
	Utsätt inte för ljus
	Innehållet räcker för <n> tester
	Utgångsdatum



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

www.sentineldiagnostics.com



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

+1 888 301 NMDX (6639)
techsupport@neumodx.com

Vaksamhetsrapportering: www.neumodx.com/contact-us

Patent: www.neumodx.com/patents