



201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip
ETTEVAATUST. Ainult USA ekspordiks



Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas koos seadmetega NeuMoDx™ 288 ja NeuMoDx™ 96 Molecular Systems



See pakendi infoleht tuleb enne toote kasutamist hoolikalt läbi lugeda. Pakendi infolehe juhiseid tuleb vastavalt järgida.
Analüüsi tulemuste usaldusväärsust ei ole võimalik tagada, kui esinevad kõrvalekalded pakendi infolehe juhistest.
Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx™ 288 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600108
Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx™ 96 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600317



SIHTOTSTARVE

Analüüs NeuMoDx™ BKV Quant Assay on automatiseeritud, *in vitro* nukleiinhapete amplifitseerimise analüüs BK viiruse (BKV) DNA identifitseerimiseks ja kvantifitseerimiseks inimese plasmast/seerumist ja uriinist ekstraheeritud proovides. Kasutatuna seadmel NeuMoDx™ 288 Molecular System või NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx™ System(s)) võimaldab analüüs NeuMoDx BKV Assay automatiseeritud DNA ekstraheerimist, et isoleerida proovidest sihtnukleiinhapped, ning reaalajas polümeraasi ahelreaktsiooni (Polymerase Chain Reaction PCR), et sihtida BKV genoomis kõrgkonserveerunud järjestusi.

Analüüs NeuMoDx BKV Quant Assay on ette nähtud kasutamiseks abivahendina BK viiruse infektsiooni diagnoosimisel ja jälgimisel koos teiste kliiniliste ja laboratoorsete leidudega.

KOKKUVÕTE JA SELGITUSED

Plasmaproovide ettevalmistamiseks võib kasutada inimese täisverd mis on kogutud steriilsetesse vere kogumise katsutitesse, milles on antikoagulandina EDTA, või plasma ettevalmistamise katsutitesse (Plasma Preparation Tubes, PPT), samas kui seerum tuleks koguda seerumi kogumise või eraldamise katsutitesse (Serum Separation Tubes, SST). Uriiniproovide testimiseks kogutakse uriiniproov standardsesse uriinikogumisnõusse, milles pole säilitusaineid ega lisaineid. Testimiseks ettevalmistamiseks ja automaatse töötlemise alustamiseks laaditakse seadmega NeuMoDx™ System ühilduvas primaarse või sekundaarse proovikatsutis plasma/seerum või uriin seadmesse NeuMoDx™ System, kasutades selleks ettenähtud proovikatsutikandjat. Plasma-/seerumiproovide jaoks segatakse 550 µl alikvooti proovi lüüsimispuhvriga NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 seadmest või alternatiivina segatakse 100 µl alikvooti plasma-/seerumiproovi lüüsimispuhvriga NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. Uriiniproovide jaoks segatakse 550 µl alikvooti proovi lüüsimispuhvriga NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 seadmest. NeuMoDx™ System teostab automaatselt kõik vajalikud etapid sihtnukleiinhappe ekstraheerimiseks, isoleeritud DNA reaalaja PCR-i amplifikatsiooniks ettevalmistamiseks ning vajadusel amplifitseerib ja tuvastab amplifikatsiooniproduktid. Analüüs NeuMoDx™ BKV Quant Assay sisaldab DNA proovi töötlemise kontrolli (Sample Process Control, SPC1), et aidata jälgida võimalikke inhibeerivaid aineid ja ka seadme NeuMoDx™ System või reaktiivi tõrkeid, mis võivad ekstraheerimise ja amplifitseerimise protsessi käigus esineda.

BK polüomaviirus (BKV) on kaheaheeliste DNA (double-stranded DNA, dsDNA) viiruste *Polyomaviridae* perekonna liige. BKV põhjustab sagedat lapsea infektsiooni ilma suuremate kliiniliste tagajärgedeta ja > 80% täiskasvanutest on BKV¹ suhtes seroposiitvused. Selle dsDNA viiruse esmane infektsioon on üldjuhul asümptomaatiline ja esineb lapsepõlves. Sümptomite esinemisel on kõige sagedamad sümpptomid palavik ja mittespetsiifiline ülemiste hingamisteede infektsioon.² Pärast esmase infektsiooni tekkimist võib viirus jääda latentseks paljudes kohtades, eriti neerudes. Ülekanne võib toimuda kehavedelikega kokkupuutel. Suhtelise või absoluutse rakulise immuunpuudulikkusega seisunditega võib viirus taasaktiveeruda ja haigust põhjustada.²

PCR-põhine viiruskoormuse kvantifitseerimine plasmas/seerumis ja uriinis on tavapärase kliiniline vahend BKV reaktiivsiooni jälgimiseks. BKV kvantitatiivsete uuringute PCR-i tulemused näitavad positiivset korrelatsiooni suurema viiruskoormuse ja BKV-ga seotud nefropaatia (BKV-Associated Nephropathy, BKVAN) tekke suurenenud tõenäosuse vahel¹. Teine kliiniline vahend, mida kasutatakse BKV agregaatide kirjeldamiseks uriinis, on elektronmikroskoopia, mis sarnaneb kolmemõõtmeliste BKV agregaatidega. Analüüs pole rutiinses kliinilises praktikas teostatav elektronmikroskoopia kulukuse ja piiratud kättesaadavuse tõttu.¹

PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED

Analüüs NeuMoDx™ BKV Quant Assay kasutab seadmes NeuMoDx™ System analüüsi teostamiseks testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, kalibraatorikomplekti NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, välise kontrolli komplekti NeuMoDx™ BKV External Control Kit, lüüsimispuhvreid NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, NeuMoDx™ Lysis Buffer 2, NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 ja NeuMoDx™-i üldotstarbelisi reaktiive. Reaktiivide säilitustemperatuur on +15/+30 °C.

Analüüs NeuMoDx™ BKV Quant Assay ühendab automatiseeritud DNA ekstraheerimise, amplifitseerimise ja tuvastamise reaalaja PCR-i abil. Plasma-/seerumiproovid ja uriiniproovid seadmega NeuMoDx™ System ühilduvas primaarsetes või sekundaarsetes proovikatsutites pannakse proovikatsutikandjasse, mis seejärel laaditakse töötlemiseks seadmesse NeuMoDx™ System. Kasutaja täiendav sekkumine pole vajalik.

Seade NeuMoDx™ Systems kasutab automaatse rakkude lüüsimise, DNA ekstraheerimise ja inhibiitorite eemaldamise teostamiseks kuumutamise, lüütilise ensüümi ja ekstraheerimisreaktiivide kombinatsiooni. Vabanenud nukleiinhapped püütakse kinni paramagnetilise osakeste abil. Osakesed koos seotud nukleiinhapetega laaditakse kassetti NeuMoDx™ Cartridge, kus seondumata, DNA-d mittedisaldavad komponendid pestakse täiendavalt pesemisreaktiiviga NeuMoDx™ Wash Reagent ja seotud DNA elueeritakse vabastusreaktiivi NeuMoDx™ Release Reagent abil. Seade NeuMoDx™ Systems kasutab seejärel elueeritud DNA-d, et reühdreerida patenditud külmkuivatatud amplifikatsioonireaktiivid Sentinel CH. (STAT-NAT® tehnoloogia), mis sisaldavad kõiki BKV-spetsiifiliste ja SPC1 sihtmärkide PCR-amplifitseerimiseks vajalikke elemente. Pärast lüofiliseeritud PCR-reaktiivide taastamist jaotab seade NeuMoDx™ System ettevalmistatud PCR-iks valmis segu kassetti NeuMoDx™ Cartridge. DNA kontroll- ja sihtmärk-järjestuse (kui see on olemas) amplifitseerimine ja tuvastamine toimub kassetti NeuMoDx™ Cartridge PCR-i kambris. Kassett NeuMoDx™ Cartridge on samuti loodud amplikoni hoidmiseks pärast reaalaja PCR-i, välistades seeläbi põhimõtteliselt amplifikatsioonijärgse saastumise riski.

Võimendatud sihtmärgid tuvastatakse reaalajas hüdrolüüsisondide keemia abil (tavaliselt nimetatakse seda TaqMan®-i keemiaks), kasutades fluoro-genese oligonukleotiidide sondimolekule, mis on spetsiifilised amplikonidele nende vastavate sihtmärkide jaoks.

Sonidid TaqMan® koosnevad fluorofoorist, mis on kovalentselt seotud oligonukleotiidi sondi 5'-otsaga ja kustutist 3'-otsas. Kui sond on intakne, on fluorofoor ja kustuti läheduses, mille tulemuseks on kustuti-molekul, mis kustutab fluorestsentsi, mille fluorofoor eraldab FRET-i (Försteri resonantsenergia ülekande) kaudu.

TaqMan®-i sonidid on loodud selliselt, et need tugevnevad praimerite kindla komplektiga võimendatud DNA piirkonnas. Kui Taq DNA polümeraas pikendab praimerit ja sünteesib uue ahela, siis Taq DNA polümeraasi 5' kuni 3' eksonukleaasi aktiivsus lagundab matriitsiga kokkusulanud sondi. Sonidide lagunemine vabastab fluorofoori ja katkestab vahetu läheduse kustutiga, vältides sellega FRET-ist tulenevat kustutusmõju ja võimaldades fluorofoori fluorestsentsi tuvastada. Seadme NeuMoDx™ System kvantitatiivse PCR-i termotsükleris tuvastatud tekkinud fluorestsentsisignaali on otseselt proportsionaalne vabanenud fluorofooriga ja seda saab korreleerida olemasoleva sihtmärk-DNA hulga.³

5'-otsas fluorofooridega ja 3'-otsas kustutitega märgistatud sonde TaqMan® kasutatakse BKV DNA ja SPC1 DNA tuvastamiseks. Seadme NeuMoDx™ System tarkvara jälgib iga amplifitseerimistsükli lõpus TaqMan-i sondide poolt emiteeritud fluorestsentsisignaali. Kui amplifikatsioon on lõpule jõudnud, analüüsib seadme NeuMoDx™ System tarkvara andmeid ja esitab lõpptulemuse (POSITIVE (POSITIIVNE) / NEGATIVE (NEGATIIVNE) / INDETERMINATE (MÄÄRAMATU) / UNRESOLVED (LAHENDAMATA) / NO RESULT (TULEMUS PUUDUB)). Kui tulemus on positiivne ja arvutatud kontsentratsioon on kvantiteedi määramise piires, annab seadme NeuMoDx System tarkvara ka prooviga seostatud kvantitatiivse väärtuse.

REAKTIIVID/KULUKAUBAD

Kaasasolevad materjalid

REF	Sisu	Ühikut pakendi kohta	Testi ühiku kohta	Testi pakendi kohta
201800	NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip <i>Külmkuivatatud PCR-reaktiivid, mis sisaldavad BKV-spetsiifilisi TaqMan®-i sonde ja primereid ning SPC1-spetsiifilisi TaqMan®-i sonde ja primereid.</i>	6	16	96

Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad reaktiivid ja kulukaubad (saadaval eraldi ettevõttelt NeuMoDx)

REF	Sisu
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Kuivatatud paramagnetilised osakesed, lüütiline ensüüm ja proovi töötlemise kontrollid</i>
800600	NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit <i>BKV kõrgete ja madalate kuivatatud kalibraatorite ühekordsed komplektid, et määrata standardkõvera kehtivus</i>
900601	NeuMoDx™ BKV External Control Kit <i>Ühekordselt kasutatavad BKV positiivsete kuivatatud ja negatiivsete kontrollproovide komplektid, et määrata analüüsi NeuMoDx BKV Quant Assay päevane kehtivus</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	Filtriga otsakud Hamilton CO-RE (300 µl)
235905	Filtriga otsakud Hamilton CO-RE (1000 µl)

Vajalikud mõõteseadmed

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

HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip on ette nähtud kasutamiseks *in vitro* diagnostikas ainult seadmetega NeuMoDx™ Systems.
- Enne analüüsi teostamist lugege läbi kõik komplekti infolehes sisalduvad juhised.
- Ärge kasutage reaktiive või kulukaupa pärast märgitud kõlblikkuuapäeva.
- Ärge kasutage ühtegi reaktiivi, kui turvasulgur on katki või kui pakend on saabumisel kahjustatud.
- Ärge kasutage kulukaupa ega reaktiive, kui kaitsekott on saabumisel avatud või katki.
- Ärge segage amplifitseerimise reaktiividega teistest kaubanduslikest kompleksidest.
- Mitte korduskasutada.
- Hoidke kõiki testribasid NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips valguse ja niiskuse eest kaitstult alumiiniumist ümbrikutes.
- Enne kui testi tulemusi saab kliinilistele proovidele genereerida, peab olema saadaval kehtiv testi kalibreering (saadud, töödeldes kalibraatorikomplektide NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit (REF 800600) kõrgeid ja madalaid kalibraatoreid).
- Välise kontrolli komplekte NeuMoDx™ BKV External Control Kit (REF 900601) tuleb töödelda iga 24 tunni tagant kogu analüüsiga NeuMoDx™ BKV Quant Assay testimise vältel.
- Proovi väiksem maht sõltub katsuti suuruselt, proovikandjast ning proovimahu töövoost, nagu see on määratletud allpool. Kindlaksmääratud miinimumist väiksem maht võib põhjustada tõrke „Quantity Not Sufficient“ (Kogus pole piisav).
- Vale temperatuuri juures või määratud säilitamisaegadest kauem säilitatud proovidega BKV analüüsi teostamine võib anda kehtetuid või valesid tulemusi, kui kasutatakse testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Vältige kõikide reaktiivide ja kulukaupade saastumist mikroobide ja desoksüribonukleasididega (DNAas). Sekundaarsete proovikatsutite kasutamisel on soovitatav kasutada steriilseid DNAasi-vabu ühekordseid ülekandepipette. Kasutage iga proovi jaoks uut pipetti.
- Saastumise vältimiseks ärge käsitage ega eraldage pärast amplifikatsiooni ühtegi kassetti NeuMoDx™ Cartridge. Ärge mingil juhul võtke kassette NeuMoDx™ Cartridge bioohtlike jäätmete mahutist (NeuMoDx™ 288 Molecular System) ega bioohtlike jäätmete nõust (NeuMoDx™ 96 Molecular System) välja. Kassett NeuMoDx™ Cartridge on loodud saastumise vältimiseks.
- Juhtudel, kui laboris viiakse läbi ka avatud katsuti PCR-teste, tuleb hoolitseda selle eest, et testribad NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, testimiseks vajalikud täiendavad kulukaupad ja reaktiivid, isikukaitsevahendid, nagu kindad ja laborikitlid, ja seade NeuMoDx™ System ei saastuks.
- NeuMoDx™-i reaktiivide ja kulukaupade käsitsemisel tuleb kanda puhtaid, pulbrivabu nitrilkindaid. Ärge puudutage kassetti NeuMoDx™ Cartridge ülemist pinda, testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip või ekstraheerimisplaadi NeuMoDx™ Extraction Plate fooliumtihendi pinda ega lüüsimispuhvri NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 ja 5 ülemist pinda; kulukaupade ja reaktiivide käsitsemine peaks toimuma ainult külgpindu puudutades.
- Iga reaktiivi kohta on vastavalt vajadusele esitatud ohutuskaardid (Safety Data Sheets, SDS) www.neumodx.com/client-resources.
- Vertikaalne riba teksti servas näitab muudatusi võrreldes eelmise kasutusjuhendi versiooniga.
- Pärast testi tegemist peske hoolikalt käsi.
- Ärge pipeteerige suu abil. Ärge suitsetage, jooge ega sööge kohtades, kus käideldakse proove või reaktiive.
- Käideldes proove alati nii, nagu need oleksid nakkusohtlikud, ja materjalide korral, mis sisaldavad või mille korral kahtlustate, et need sisaldavad nakkustekitajaid, tuleb vastavalt rakendada ohutuid laboriprotseduure, nagu on kirjeldatud OSHA dokumendis „Standard on Bloodborne Pathogens⁴, Biosafety Level 2⁵“ või vastavalt muule asjakohasele bioohutuspraktikale^{6,7}.
- Utliseerige kasutamata reaktiivid ja jäätmed vastavalt riigi, föderaal-, provintsi, osariigi ja kohalikele seadustele.
- Analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay tulemusi tuleb tõlgendada koos oluliste kliiniliste ja laboratoorsete leidude kontekstis.
- Nagu ka teiste analüüsides, et välista negatiivne tulemus BKV infektsiooni.

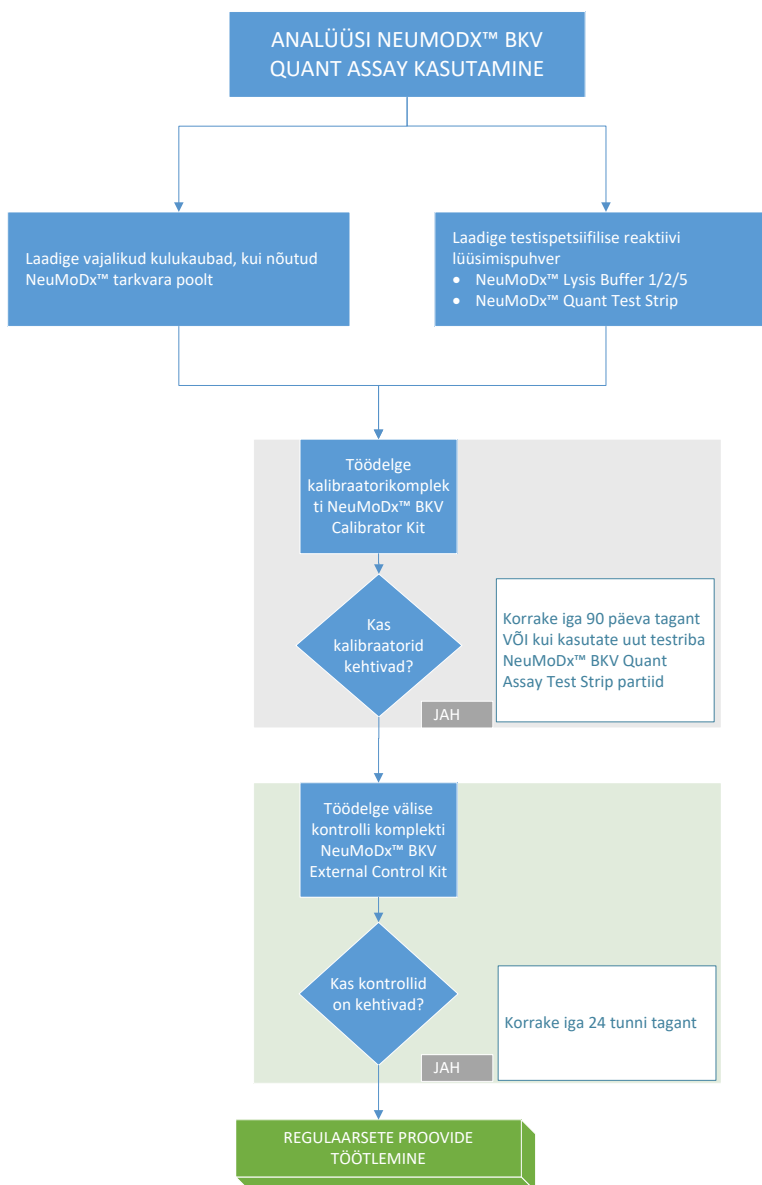
TOOTE SÄILITAMINE, KÄSITSEMIN JA STABIILSUS

- Testribad NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips on esimeses pakendis stabiilsed temperatuuril 15–30 °C kuni vahetel tooteetiketil märgitud kõlblikkusaja lõpuni.
- Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, mis on laaditud seadmesse NeuMoDx™ System, on stabiilne 32 päeva; seadme NeuMoDx™ System tarkvara nõuab seadmes NeuMoDx™ System kauem kui 32 kasutusel olnud testribade eemaldamist ning tuleb avada uued testribad NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip (eemaldada ribad kotist) ja laadida seadmesse NeuMoDx™ System. Ärge eemaldage seadmesse NeuMoDx™ System laadimise ajal ribalt alumiiniumfooliumi.
- NeuMoDx™-i kalibraatorid ja kontrollid ei ole nakkuslikud, kuid need tuleb pärast kasutust kõrvaldada labori bioohtlikesse jäätmetesse, kuna need sisaldavad pärast seadmes töötlemist sihtmaterjal, mis võib mittenouetekohasel käitlemisel saastumist põhjustada.

PROOVIKOGUMINE, TRANSPORTIMINE JA SÄILITAMINE

1. Käsitleda kõiki proove kui võimaliku nakkusohu allikana.
2. Ärge külmutage täisverd ega primaarsetes katsutites hoitud plasma-/seerumiproove.
3. Plasmaproovide ettevalmistamiseks tuleks täisverd koguda steriilsetesse katsutitesse, kasutades antikoagulandina EDTA-d. Seerumiproovid tuleb ettevalmistada seerumi eraldamise katsutites. Uriiniproovid tuleb koguda steriilsetesse katsutitesse või nõudesse. Järgige proovi kogumiskatsuti tootja juhiseid.
4. Eespool nimetatud seadmetesse kogutud täisverd võib enne plasma/seerumi ettevalmistamist säilitada ja/või transportida kuni 24 tundi temperatuuril 2–8 °C. Proovid tuleb ettevalmistada vastavalt tootja juhistele.
5. Värske töötlemata uriini säilitamist ümbritseva keskkonna temperatuuril tuleks minimeerida, kuna madal pH ja kõrge ureasisaldus denatureerivad DNA-d kiiresti, eriti temperatuuril 25 °C ja kõrgemal.
6. Ettevalmistatud plasma-/seerumiproove ja uriiniproove võib enne töötlemist hoiustada seadmes NeuMoDx[™] System kuni 24 tundi. Kui hoiustada on vaja kauem, on soovituslik proovid enne jahutada või külmutada sekundaarsete alikvootidena.
7. Ettevalmistatud plasma-/seerumiproove ja uriiniproove tuleks hoida vahemikus 2 kuni 8 °C mitte kauem kui 8 päeva enne testimist ja kuni 24 tundi toatemperatuuril.
8. Ettevalmistatud proove võib temperatuuril -20 °C enne töötlemist säilitada plasma korral kuni 8 nädalat ja seerumi korral kuni 2 nädalat; nii plasma- kui ka seerumiproovid ei tohi enne kasutamist olla külmunud/ülesulanud üle 2 korra:
 - a. Kui proovid külmutada, laske proovidel toatemperatuuril (15–30 °C) täielikult üles sulada; keeristage lähtemahutis, et saada ühtlaselt jaotunud proov.
 - b. Kui külmunud proovid on üles sulanud, tuleb testida 24 tunni jooksul.
 - c. Plasmata/seerumit ei ole soovitatav külmutada esmases kogumiskatsutis.
9. Pärast töötlemist võib uriiniproove säilitada temperatuuril 2–8 °C.
10. Proovide tarnimisel tuleb need pakendada ja märgistada vastavalt kohalduvatele riiklikele ja/või rahvusvahelistele eeskirjadele.
11. Sildistage proovid selgelt ja näidake, et need proovid on BKV testimiseks.
12. Vt jaotist *Testi ettevalmistamine*.

Analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay kasutamise üldine protsess on kokku võetud *Joonis 1*.



Joonis1. Analüüsi NeuMoDx BKV Quant Assay kasutamise töövoog

KASUTUSJUHEND

Testi ettevalmistamine

Plasma-/seerumiproovidega saab analüüsi NeuMoDx BKV Quant Assay kasutada otse esmaste vere kogumiskatsutitega või sekundaarsetes katsutites proovialikvootidega. Töödelda saab, kasutades ühte kahest proovimahu töötlemise töövoogu – 550 µl proovi töövoog või 100 µl proovi töövoogu. Uriiniproove töödeldakse ainult 550 µl proovimahu töövooga.

- Kandke proovikatsutile, mis ühildub seadmega NeuMoDx™ System, proovi võotkoodisilt. Primaarse vere kogumiskatsuti võib märgistada ja asetada otse 32-pesalisse proovikatsutikandjasse pärast tsentrifuugimist vastavalt tootja juhiste.
- Plasma-/seerumiproovi analüüsimisel esmases kogumiskatsutis asetage võotkoodiga katsuti proovikatsutikandjasse ja veenduge, et kork eemaldataks enne seadmesse NeuMoDx System laadimist. Väikseimad mahud **ülalpool** geeli/puhvri kihti on määratletud allpool ja neid järgitakse, kogudes ja töödeldes proove vastavalt katsuti tootja juhiste. Ebaõigesti kogutud proovide korral ei ole toimivus tagatud.

Vere kogumine Katsuti tüüp	Proovi väikseim maht	
	550 µl töövoog	100 µl töövoog
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/seerum – 4,0 ml	1050 µl	650 µl
K ₂ EDTA/seerum – 6,0 ml	1250 µl	850 µl
K ₂ EDTA/seerum – 10,0 ml	1600 µl	1200 µl

- Uriiniproovide või plasma-/seerumiproovide kasutamisel sekundaarse katsutis viige proovi alikvoot võotkoodiga näidisekatsutisse, mis ühildub seadmega NeuMoDx System vastavalt allpool määratletud mahtudele:

Proovikatsutikandja	Katsuti suurus	Proovi väikseim maht	
		550 µl töövoog	100 µl töövoog (Ainult plasma/seerum)
32-Tube Specimen Tube Carrier (32-kohaline proovikatsutikandja)	diameetriga 11–14 mm kõrgusega 60–120 mm	700 µl	350 µl
24-Tube Specimen Tube Carrier (24-kohaline proovikatsutikandja)	diameetriga 14,5-18 mm kõrgusega 60–120 mm	1100 µl	750 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (Väikese mahuga proovikatsutikandja)	1,5 ml koonuselise põhjaga mikrotsentrifuugi katsuti	650 µl	250 µl

Seadme NeuMoDx System kasutamine

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx™ 288 ja 96 Molecular Systems käsiraamatut; (tootekood 40600108 ja 40600317)

- Laadige testi tellimus seadmesse NeuMoDx System vastavalt soovitud proovi ja katsuti tüübile:
 - 550 µl proovimahut testitakse, määrates proovitüübiks kas „**Plasma**”, „**Serum**” (Seerum) või „**Urine**” (Uriin)
 - 100 µl proovimahut testitakse, määrates proovitüübiks kas „**Plasma2**” või „**Serum2**” (Seerum 2)
 - Kui see ei ole testi tellimuses määratletud kasutatakse katsutis **Secondary Tube** (Sekundaarne katsuti) vaikimisi proovitüüpi **Plasma**.
- Lõigake testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip alumiiniumkotte külgmiste sälkudega näidatud kohas.
- Eemaldage ribad kotist vahetult enne kasutamist.
- Enne kottide kasutamist veenduge, et need oleksid korralikult suletud ja kuivatusaine kotike on endiselt sees. Kasutage ainult kahjustamata pakendeid.
- Kui kuivatusaine kotike on muutunud oranžist rohelisest, visake alumiiniumist kotid ja nende sisu ära.
- Täitke üks või enam seadme NeuMoDx™ System testribakandjat testriba(de)ga NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ja kasutage puutekraani, et laadida testribakandja(d) seadmesse NeuMoDx™ System.
- Kui seadme NeuMoDx™ System tarkvara seda soovib, lisage vajalikud kulukaubad seadme NeuMoDx™ System tarbitavatele kandjatele ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx™ System.

8. Kui seadme NeuMoDx™ System tarkvara seda soovib, vahetage välja pesemisreaktiiv NeuMoDx™ Wash Reagent, vabastusreaktiiv NeuMoDx™ Release Reagent, tühjendage praimingujäätmeh, bioohtlike jäätmeh mahuti (ainult NeuMoDx 288 Molecular System), otsikute jäätmehmahuti (ainult NeuMoDx 96 Molecular System) või bioohtlike jäätmeh nõu (ainult NeuMoDx 96 Molecular System) vastavalt vajadusele.
9. Kui seadme NeuMoDx™ System tarkvara seda soovib, töödelge reaktiive Calibrators (REF 800600) ja/või External Controls (REF 900601) vastavalt vajadusele. Rohkem teavet kalibraatorite ja kontrollide kohta leiab jaotisest *Tulemuste töötlemine*.
10. Laadige proovi-/kalibraator-/kontrollkatsuti(d) standardsesse 32-kohalisse proovikatsutikandjasse ja veenduge, et kõigilt katsutitelt on korgid eemaldatud.
11. Asetage proovikatsutikandja automaatlaadija riili mis tahes vabale kohale ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja laadimiseks seadmesse NeuMoDx™ System. Sellega käivitatakse tuvastatava(te) testi(de) jaoks laaditud proovide töötlemine, eeldusel, et seadmes on kehtiv testitellimus.

PIIRANGUD

- Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip saab kasutada ainult seadmel NeuMoDx™ Systems.
- Testribade NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip toimivus on kindlaks tehtud plasma- ja seerumiproovidega, mis on valmistatud täisverest ja kogutud antikoagulandina EDTA-t kasutades, ja uriiniproovidega; testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip kasutamist teiste kliiniliste näidiste tüüpidega ei ole hinnatud ja teiste proovitüüpidega on testi toimivusnäitajad teadmata.
- Kui kasutada 100 µl proovimahuga töövoogu, on täheldatud analüüsi NeuMoDx BKV Quant Assay tuvastuspiiri ja kvantitatiivse määramise alampiiri vähest tõusu.
- Analüüsi NeuMoDx BKV Quant Assay ei tohi kasutada proovide korral, mis on kogutud inimestelt, kellele on manustatud hepariini.
- Kuna BKV tuvastamine sõltub proovis esinevate organismide arvust, sõltuvad usaldusväärsed tulemused proovide nõuetekohasest kogumisest, käitlemisest ja säilitamisest.
- Kalibraatorid ja välised kontrollid tuleb töödelda vastavalt pakendis sisalduvatele soovitudele ja kui seda soovib seadme NeuMoDx™ tarkvara enne tavapäraste kliiniliste proovide töötlemist.
- Proovide ebaõige kogumise, käitlemise, säilitamise, tehniliste vigade või proovikatsuti segijamise tulemusel võib saada valed tulemused. Lisaks võivad tekkida valenegatiivsed tulemused, kuna proovides leiduvate viiruseosakeste arv on väiksem kui analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay tuvastuspiir.
- Seadet NeuMoDx™ System tohib kasutada ainult seadme NeuMoDx™ System kasutamise väljaõppe saanud personal.
- Kui nii BKV sihtmärk kui ka SPC1 sihtmärk ei amplifitseeru, esitatakse kehtetu tulemus (Indeterminate (Määramatu), No Result (Tulemus puudub) või Unresolved (Lahendamata)) ja testi tuleb korrata.
- Kui analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay tulemus on Positive (Positiivne), kuid kvantitatiivne väärtus on alla kvantitatiivset määramispiiri, annab seade NeuMoDx™ System väärtuse, kas tuvastatud BKV oli allpool kvantitatiivse määramise alampiiri (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) või ülalpool kvantitatiivse määramise ülempiiri (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Kui tuvastatud BKV on allpool LLoQ-d, võib analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay korrata (soovi korral) proovi teise alikvoodiga.
- Kui tuvastatud BKV on ülalpool ULoQ-d, võib analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay korrata algse proovi lahjendatud alikvoodiga. Soovituslik lahuse suhe on 1:1000 BKV negatiivse plasmaga või lahustiga BaseMatrix 53 Diluent (BaseMatrix) (SeraCare, Milford, MA). Algse proovi kontsentratsiooni saab arvutada järgnevalt.

Algse proovi kontsentratsioon = $\log_{10}(\text{lahjendustegur}) + \text{lahjendatud proovi esitatud kontsentratsioon}$.

- PCR-inhibiitorite juhuslik esinemine plasmas/seerumis või uriinis võib tekitada süsteemis vea Quantitation Error (Kvantiteerimisviga); sellisel juhul on soovitatav, et testi korratakse sama prooviga, mida on lahjendatud lahustiga BaseMatrix suhte juures 1:10 või 1:100.
- Positiivne tulemus ei tähenda tingimata elujõuliste organismide esinemist. Positiivne tulemus aga viitab BKV DNA esinemisele.
- Analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay sihtmärgistatud konserveerunud piirkondade kustumine või muteerumised võivad testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip kasutamisel mõjutada tuvastamist või tingida vale tulemuse.
- Analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay tulemusi tuleks kasutada kliiniliste vaatluste ja muu arstile kättesaadava teabe täiendusena; analüüs ei ole ette nähtud infektsiooni diagnoosimiseks.
- Saastumise vältimiseks on soovitatav hea laboritava, sealhulgas kinnaste vahetamine erinevate patsiendiproovide käitlemise vahel.

TULEMUSTE TÖÖTLEMINE

Kättesaadavaid tulemusi saab vaadata või printida seadme NeuMoDx™ System puutekraani akna Results (Tulemused) vahekaardilt „Results“ (Tulemused).

Analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay tulemused genereeritakse automaatselt seadme NeuMoDx™ System tarkavara poolt, kasutades otsustusalgoritmi ja tulemuste töötlemise parameetreid, mis on analüüsi definitsiooni failis NeuMoDx™ BKV (BKV Assay Definition File, BKV ADF). Analüüs NeuMoDx™ BKV Quant Assay tulemus võib olla esitatud kui Negative (Negatiivne), Positive (Positiivne) koos BKV kontsentratsiooniga, Positive (Positiivne) ülalpool ULOQ-d, Positive (Positiivne) allpool LLOQ-d, Indeterminate (IND) (Määramatu) või Unresolved (UNR) (Lahendamata) või No Result (NR) (Tulemus puudub) vastavalt sihtmärgi ja proovi töötlemise kontrolli amplifikatsiooni seisule. Tulemused esitatakse otsustusalgoritmi põhjal, mis on kokku võetud allpool Tabel 1.

Tabel 1. Analüüsi NeuMoDx BKV Quant Assay otsustusalgoritmi kokkuvõte

Tulemus	BKV	Proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1)	Tulemuse tõlgendus
Positive (Positiivne) esitatud kontsentratsiooniga	Amplified (Amplifitseeritud) $1,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (550 μl töövoog)* $2,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (100 μl töövoog)*	Amplified (Amplifitseeritud) või Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Kvantitatiivses vahemikus tuvastatud BKV DNA
Positive (Positiivne), üle kvantifitseerimise ülempiiri [Upper Limit of Quantitation, ULOQ]	Amplified (Amplifitseeritud) $[BKV] > 8,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$	Amplified (Amplifitseeritud) või Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Ülalpool kvantitatiivset vahemikku tuvastatud BKV DNA
Positive (Positiivne), alla kvantifitseerimise alampiiri [Lower Limit of Quantitation, LLOQ]	Amplified (Amplifitseeritud) $[BKV] < 1,3 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (550 μl töövoog)* $[BKV] < 2,3 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (100 μl töövoog)*	Amplified (Amplifitseeritud) või Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Allpool kvantitatiivset vahemikku tuvastatud BKV DNA
Negative (Negatiivne)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Amplified (Amplifitseeritud)	BKV DNA-d ei tuvastatud
Indeterminate (Määramatu)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Mitteamplifitseeritud, Tuvastatud süsteemiviga, Proovi töötlemine lõpetatud)		Kõik tulemused olid kehtetud; testige proovi uuesti†
No Result (Tulemus puudub)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Mitteamplifitseeritud, Tuvastatud süsteemiviga, Proovi töötlemine katkestatud)		Proovi töötlemine katkestati; testige proovi uuesti†
Unresolved (Lahendamata)	Not Amplified, No System Error Detected (Mitteamplifitseeritud, süsteemiviga pole tuvastatud)		Kõik tulemused olid kehtetud; testige proovi uuesti†

*550 μl töövoogu kasutatakse plasma-/seerumi- ja uriiniproovidega. 100 μl töövoogu kasutatakse ainult plasma-/seerumiproovidega.

NeuMoDx System on varustatud automaatse Rerun (Uuesti käitamine) / Repeat (Kordamine) võimekusega, mida lõppkasutaja saab valida, et tagada IND/NR/UNR-i tulemuse automaatne uuesti töötlemine, et minimeerida tulemuse esitamise viibimist.

Testi arvutamine

- Proovide korral, mis on analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay kvantitatiivses määramisvahemikus, arvutatakse proovide BKV DNA kontsentratsioon, kasutades salvestatud standardkõvera koos kalibreerimiskoeffitsiendi ja proovimahuga.
 - Kalibreerimiskoeffitsient arvutatakse töödeldud kalibraatorikomplekti NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit tulemuste põhjal, et määrata testribade NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip teatud partii standardkõvera kehivus seadmel NeuMoDx™ System.
 - Kalibreerimiskoeffitsient hõlmatakse BKV DNA kontsentratsiooni lõpliku määratlusse.
 - NeuMoDx tarkvara määrab proovi sisendmahu järgi BKV DNA kontsentratsiooni proovi ml kohta.
- Analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay tulemused esitatakse ühikutes $\log_{10} \text{ IU/ml}$.
- Saadav tundmatute proovide kvantitatiivse määramise tulemus on jälgitav BKV-viiruse (BKV) WHO 1. rahvusvahelise standardini (14/212)⁹.

Testi kalibreerimine

Proovide BKV DNA kvantifitseerimiseks on vaja standardkõvera põhjal teha nõuetekohane kalibreerimine. Kehtivate tulemuste genereerimiseks peab testi kalibreerima, kasutades ettevõtte NeuMoDx™ Molecular, Inc. varustatud kalibraatoreid.

Kalibraatorid

1. Kalibraatorid NeuMoDx™ BKV Calibrators sisalduvad komplektis (REF 800600) ja need koosnevad sünteetilise BKV DNA kuivatatud graanulist.
2. Iga uue testribade NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips partii korral tuleb BKV kalibraatorite komplekti töödelda, kui uus BKV analüüsi definitsiooni fail laaditakse üles seadmesse NeuMoDx™ System, kui parajasti kasutusel oleva kalibraatorite komplekti kehtivusaeg on läbi saanud (hetkel seatud 90 päevale) või kui seadme NeuMoDx™ System tarkvara muudetakse.
3. Seadme NeuMoDx™ System tarkvara teavitab kasutajat, kui kalibraatoreid tuleb töödelda. Testribade uut partiid ei saa testimiseks kasutada, kuni kalibraatorid on edukalt töödeldud.
4. Kui töödelda tuleb uus komplekt BKV kalibraatoreid, lugege enne analüüsi teostamist läbi kalibraatorikomplekti NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit infolehe juhised.
5. Kalibraatorite kehtivus määratakse järgnevalt.
 - a) Kahe kalibraatori komplekt – kõrge ja madal – tuleb kehtivuse määramiseks töödelda.
 - b) Kehtivate tulemuste genereerimiseks peab vähemalt kaks kolmest kordusest andma tulemuse eelnevalt määratletud parameetrite piires. Madala kalibraatori nominaalne sihtmärk on $3 \log_{10}$ IU/ml ja kõrge kalibraatori nominaalne sihtmärk on $5 \log_{10}$ IU/ml.
 - c) Kalibreerimiskoeffitsient arvutatakse, et võtta arvesse testribade partiide vahelised ootuspärased erinevused. Seda kalibreerimiskoeffitsienti kasutatakse, et määrata lõplik BKV kontsentratsioon.
6. Kui ühe või mõlema kalibraatori kehtivuse kontroll ebaõnnestub, siis töödelge ebaõnnestunud kalibraatorit/kalibraatoreid uuesti, kasutades uut viaali. Juhul kui ühe kalibraatori kehtivuse kontroll ebaõnnestub, saab korrata ainult ebaõnnestunud kalibraatori kontrolli, kuna seade ei nõua kasutajalt mõlema kalibraatori uuesti kasutamist.

Kvaliteedikontroll

Kohalikud eeskirjad määravad tavaliselt, et labor vastutab kontrolliprotseduuride eest, millega jälgitakse kogu analüüsiprotsessi täpsust ja kordustäpsust, ning peab määrama kontrollmaterjalide testimise arvu, tüübi ja sageduse, kasutades kontrollitud toimivusspetsifikatsioone modifitseerimata, heakskiidetud testsüsteemi jaoks.

Välised kontrollid

1. Ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. pakub väliseid kontrolle BKV External Controls komplektis BKV External Control Kit (REF900601). Positiivsed kontrollid sisaldavad sünteetilise BKV DNA kuivatatud graanulit.
2. Positiivsed ja negatiivsed välised kontrollid tuleb töödelda iga 24 tunni tagant. Kui kehtiv välise kontrollide komplekt puudub, nõuab seade NeuMoDx™ System tarkvara kasutajalt kontrollide töötlemist, et proovi tulemusi saaks esitada.
3. Kui vajalikud on välised kontrollid, valmistage enne analüüsi teostamist vastavalt komplekti NeuMoDx BKV External Control Kit infolehele ette positiivsed ja negatiivsed kontrollproovid.
4. Kasutades puutekraani ja automaatlaadija riivile paigutatud proovikatsutikandjat, laadige positiivse ja negatiivse kontrollproovi viaalid seadmesse NeuMoDx™ System. Seade NeuMoDx™ System tunneb ära vötkoodi ja alustab proovikatsutite töötlemist, välja arvatud juhul, kui testimiseks vajalikud reaktiivid või kulukaubad pole saadaval.
5. Seade NeuMoDx™ System hindab välise kontrollide kehtivust eeldatava tulemuse põhjal. Positiivne kontroll peab andma BKV tulemuse Positive (Positiivne) ja negatiivne kontrolliproov peab andma BKV tulemuse Negative (Negatiivne).
6. Välise kontrollide vastukäivaid tulemusi tuleks käsitleda järgnevalt.
 - a) Negatiivse kontrollproovi proovi tulemus Positive (Positiivne) näitab proovi saastumise probleemi.
 - b) Positiivse kontrolli proovi tulemus Negative (Negatiivne) võib osutada reaktiiviga või instrumendiga seotud probleemile.
 - c) Kummalgi ülaltoodud juhul või Indeterminate (Määramatu) tulemuse või tulemuse No Result (Tulemus puudub, NR) korral korrake välist (väliseid) kontrolli (kontrolle) NeuMoDx™ BKV External Controls ebaõnnestunud kehtivuskontrolliga kontrolli(de) uute viaalidega.
 - d) Kui positiivne väline kontroll NeuMoDx™ BKV External Control annab uuesti tulemuse Negative (Negatiivne), võtke ühendust NeuMoDx™-i klienditega.
 - e) Kui negatiivne väline kontroll NeuMoDx™ BKV External Control annab jätkuvalt tulemuse Positive (Positiivne), proovige eemaldada kõik võimalikud saastamise allikad, k.a KÕIGI reaktiivide asendamine enne NeuMoDx™-i klienditeenindusega ühenduse võtmist.

Prooviprotsessi (sisemised) kontrollid

Eraldusplaati NeuMoDx™ Extraction Plate on kätkevad eksogeenne proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1) ning see läbib iga prooviga kogu nukleinhappe ekstraheerimise ja reaala PCR amplifikatsiooni protsessi. Iga testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip hulka kuuluvad ka SPC1-spetsiifilised praimerid ja sond mis võimaldavad mitmekordse reaala PCR-i kaudu sihtmärgistatud BKV DNA (kui olemas) abil tuvastada SPC1 olemasolu. SPC1 amplifikatsiooni tuvastamine võimaldab seadme NeuMoDx™ System tarkvaral jälgida DNA ekstraheerimise ja PCR-i amplifikatsiooniprotsesside tõhusust.

Kehtetud tulemused

Kui seadmel NeuMoDx™ System läbi viidud analüüs NeuMoDx™ BKV Quant Assay ei anna kehtivat tulemust, esitatakse see kas tulemusena Indeterminate (IND) (Määramatu), No Result (NR) (Tulemus puudub) või Unresolved (UNR) (Lahendamata) olenevalt tekkinud veatüübist.

Kui proovi töötlemisel tuvastatakse seadme NeuMoDx™ System tõrge, esitatakse tulemus IND. Kui esitatakse tulemus IND, on soovitatav teha kordusanalüüs.

UNR-i tulemus esitatakse, kui ei tuvastata kehtivat BKV DNA või SPC1 amplifikatsiooni, mis viitab võimalikule reaktiivi veale või inhibiitorite esinemisele. Juhul, kui esitatakse UNR-i tulemus, on esimese sammuna soovitatav teha kordusanalüüs. Kui kordustest ebaõnnestub, võib proovi mistahes inhibeervate mõjude leevendamiseks kasutada lahjendatud proovi.

Kui seadmel NeuMoDx System läbi viidud analüüs NeuMoDx BKV Quant Assay ei anna kehtivat tulemust ja proovi töötlemine katkestatakse enne lõppu, esitatakse tulemus No Result (NR) (Tulemus puudub). Kui esitatakse tulemus NR, on soovitatav teha kordusanalüüs.

TOIMIVUSNÄITAJAD

Analüütiline sensitiivsus – tuvastuspiir¹²

Analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay analüütilist sensitiivsust kirjeldati EDX BKV Verification Paneli (Exact Diagnostics) lahuseeriade testimisega, mida kalibreeriti vastavalt BK-viiruse (BKV) 1. WHO Rahvusvahelise Standardile (14/212) ⁹, BKV-negatiivses plasma-/seerumi- ja uriiniproovides, et määrata seadme NeuMoDx Systems tuvastuspiir (Limit of Detection, LoD). Plasma/seerumi (550 µl) ja uriini korral määratleti LoD kui lähim sihttase (määratud eksperimentaalselt) üle 95% usaldusvahemikuga (Confidence Interval, CI) Probit stiilis analüüsiga määratud kontsentratsiooni. Plasma/seerumi (100 µl) korral uuriti ühte 200 IU/ml proovi kontsentratsiooni kokkulangevuse analüüsiga ja see valideeriti LoD-i jaoks, kui tuvastamismäär oli üle 95%. Uuringud viidi läbi 3 päeva jooksul mitmes seadmes reaktiivide NeuMoDx™ mitme partiiga. Iga seade töötles igal lahjendustasemel 42 kordust (positiivsed proovid) ja negatiivsete proovide 8 kordust igal päeval. Tuvastamismäärad on kujutatud Tabel 2 ja 3.

Tabel 2. Positiivsed tuvastumäärad analüüsi NeuMoDx BKV Quant Assay LoD-i määramisel (plasma/seerum 550 µl ja uriin)

Sihtkontsentratsioon [IU/ml]	Sihtkontsentratsioon [log ₁₀ IU/ml]	PLASMA/SEERUMI 550 µl töövoog			URIIN		
		Kehtivate testide arv	Positiivsete arv	Tuvastamismäär	Kehtivate testide arv	Positiivsete arv	Tuvastamismäär
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%

Tabel 3. Positiivsed tuvastumäärad analüüsi NeuMoDx BKV Quant Assay LoD-i määramisel (plasma/seerum 100 µl)

Sihtkontsentratsioon [IU/ml]	Sihtkontsentratsioon [log ₁₀ IU/ml]	PLASMA/SEERUMI 100 µl töövoog		
		Kehtivate testide arv	Positiivsete arv	Tuvastamismäär
200	2,30	89	88	99%

Analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay LoD-ks plasmas/seerumis (550 µl töövoog) määrati 20 IU/ml (1,3 log₁₀ IU/ml) 95% usaldusvahemikuga (Confidence Interval, CI) 11,03; uriinis määrati LoD-ks 20,0 IU/ml (1,3 log₁₀ IU/ml) 95% usaldusvahemikuga (Confidence Interval, CI) 13,09; plasmas/seerumis (100 µl töövoog) määrati LoD-ks 200 IU/ml (2,3 log₁₀ IU/ml).

Analüütiline sensitiivsus – kvantifitseerimise alampiir (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ja kvantifitseerimise ülempiir (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

Kvantifitseerimise alampiir (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ja kvantifitseerimise ülempiir (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) on määratletud kui madalaim sihttase ja kõrgeim sihttase, mille korral saavutatakse > 95% tuvastamine JA TAE ≤ 1,0. Selleks, et määrata LLoQ ja ULoQ, arvutati analüütiline koguviga (Total Analytical Error, TAE) iga BKV sihttaseme kohta, mille korral oli tuvastus > 95%. TAE on defineeritud järgnevalt.

$$TAE = \text{nihe} + 2 \cdot SD \text{ [Westgardi statistika]}$$

Nihe on keskmise arvatud kontsentratsiooni ja eeldatava kontsentratsiooni erinevuse absoluutväärtus. SD on proovi määratud kvantitatiivse väärtuse standardhälve.

LLoQ-i/UloQ-i uuringus kasutatud BKV plasma-/seerumi- või uriiniproovide 5 taseme koondandmed on Tabel 4 ja 5. Selle andmekomplekti ja eelnevalt määratud LoD-i põhjal määrati, et LLoQ ja ULoQ on 20 IU/ml (1,3 log₁₀ IU/ml) ja 7,58x10⁷ IU/ml (siin ligikaudu 8 log₁₀ IU/ml) vastavalt plasma/seerumi 550 µl ja uriini korral ning 200 IU/ml (2,3 log₁₀ IU/ml) plasma/seerumi 100 µl korral.

Tabel 4. Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ULoQ ja LLoQ koos nihke ja TAE-ga (plasma/seerum 550 µl ja uriin)

Sihtkont. [IU/ml]	Sihtkont. [log ₁₀ IU/ml]	Plasma/seerum 550 µl					Uriin				
		Keskmine kont. [log ₁₀ IU/ml]	Tuvastus (%)	SD	Nihe	TAE	Keskmine kont. [log ₁₀ IU/ml]	Tuvastus (%)	SD	Nihe	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

Tabel 5. Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ULoQ ja LLoQ koos nihke ja TAE-ga (plasma/seerum 100 µl)

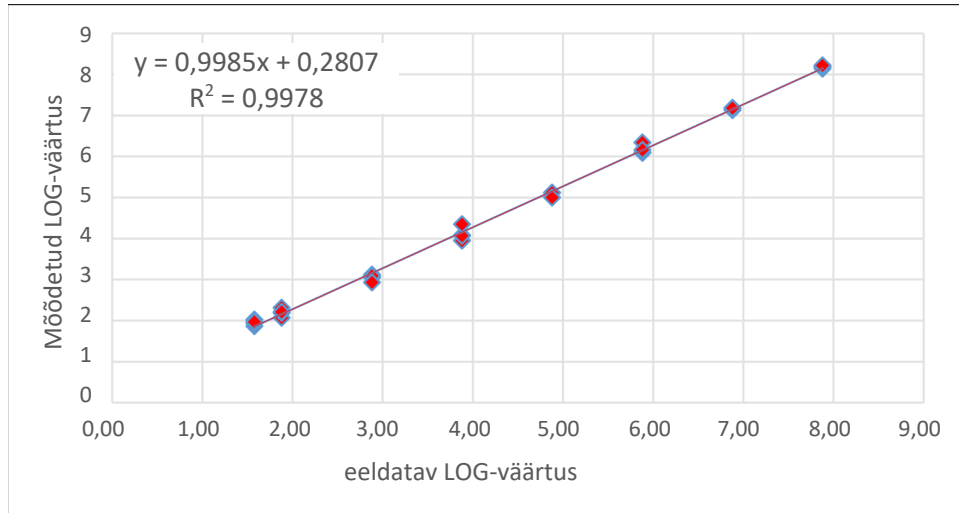
Sihtkont. [IU/ml]	Sihtkont. [log ₁₀ IU/ml]	Plasma/seerum 100 µl				
		Keskmine kont. [log ₁₀ IU/ml]	Tuvastus (%)	SD	Nihe	TAE
7,58x10 ⁷	8	8	100	0,09	0,07	0,25
200	2,30	2,30	99	0,39	0,003	0,78

Nende uuringute tulemuste põhjal määrati NeuMoDx™ BKV Quant Assay LoD-iks ja LLoQ-ks plasmas/seerumis ja uriinis 20 IU/ml (1,3 log₁₀ IU/ ml) 550 µl töövooga ja plasmas/seerumis 200 IU/ ml (2,30 log₁₀ IU/ ml) 100 µl töövooga. Kõikide proovituüpide ULoQ on 7,58x10⁷ IU/ml (8 log₁₀ IU/ml).

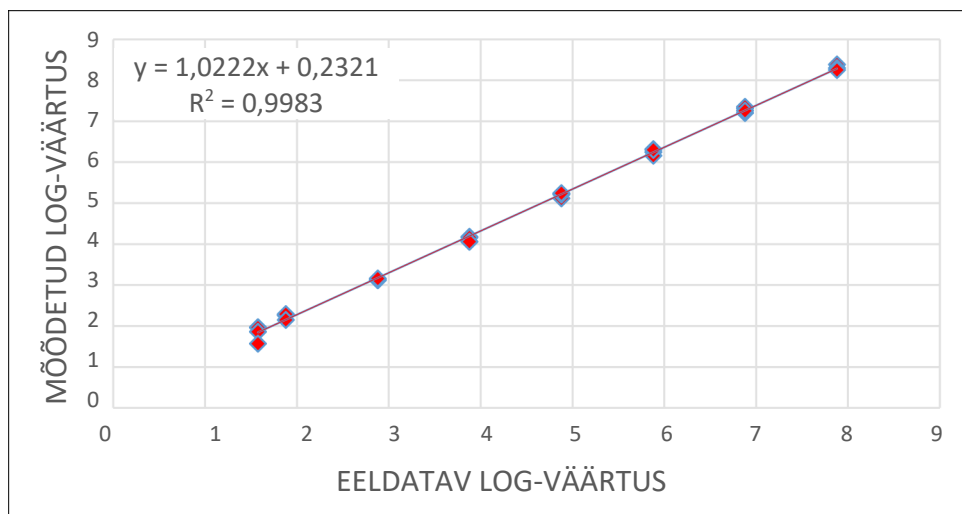
Lineaarsus¹³

Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip lineaarsus määrati plasmas/seerumis ja uriinis, valmistades ette lahuseeriad BKV sünteetilise plasmiidiga (integreeritud DNA-tehnoloogiad), mis on jälgitav BK-viiruse (BKV) WHO 1. rahvusvahelise standardini (14/212)⁹. Loodi BKV-negatiivse BaseMatrix 53 lahjendus või BKV-negatiivse inimese uriini kogumiga ettevalmistatud BKV sünteetilise plasmidi 11 seerialahjendust, et hõlmata kontsentratsioonivahemikku 7,88 – 1,58 log₁₀ IU/ml plasma/seerumi 550 µl ja uriini korral ja kontsentratsioonivahemikku 6,88 – 2,88 log₁₀ IU/ml plasma/seerumi 100 µl korral.

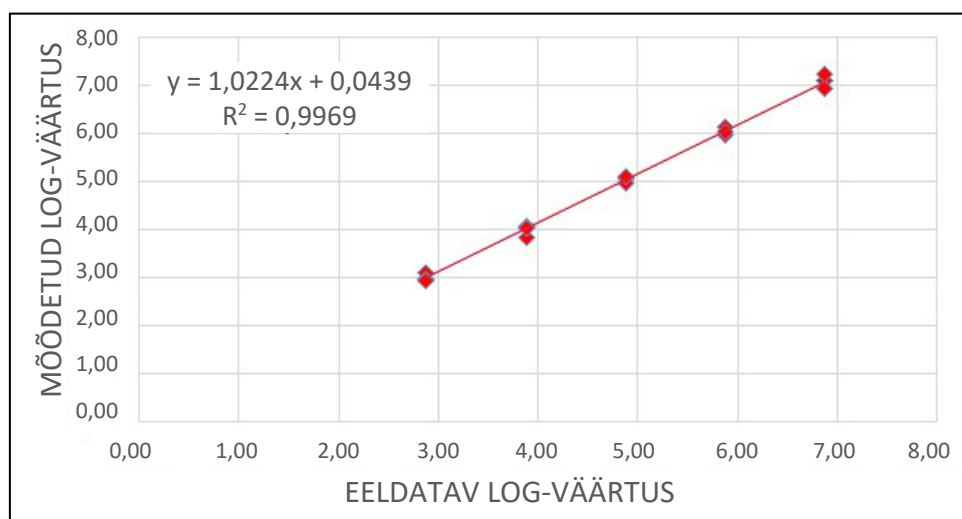
Seadme NeuMoDx™ esitatud BKV analüüsi kontsentratsioonide võrdlus ootuspäraste väärtustega on esitatud *Joonis 2, 3 ja 4*.



Joonis 2. NeuMoDx™ BKV Quant Assay lineaarsus plasma/seerumiga (550 µl töövoog)



Joonis 3. Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip lineaarsus uriiniproovidega



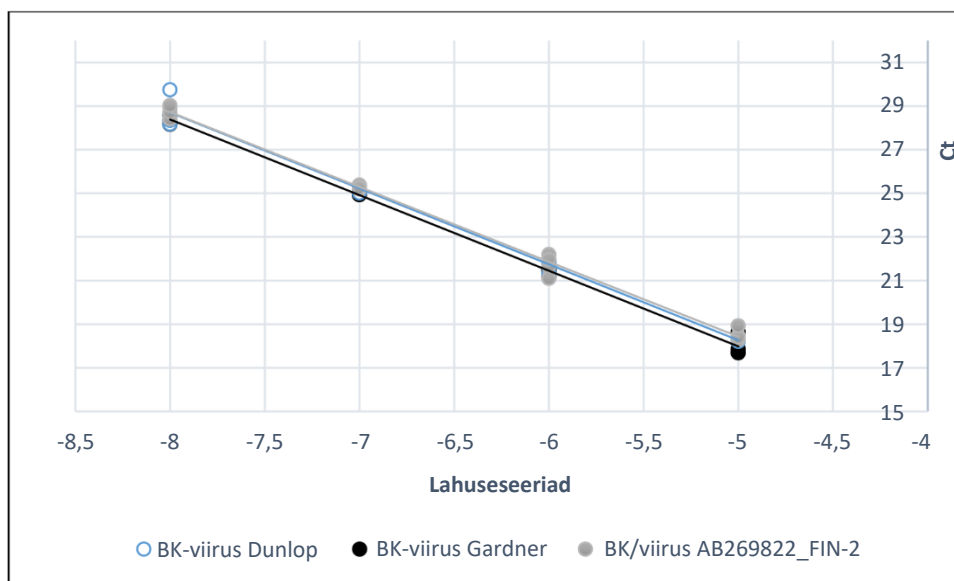
Joonis 4. Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip lineaarsus plasmas/seerumis (100 µl töövoog)

Lineaarsus genotüüpide lõikes¹⁶

Analüüsi NeuMoDx BKV Quant Assay lineaarsust kolme BKV genotüübi (BK-viirus Dunlop, BK-viirus Gardner, BK-viirus AB269822_FIN-2) korral iseloomustati BKV-negatiivse BaseMatrix 53 lahustiga valmistatud BKV iga genotüübi nelja erineva kontsentratsiooni testimisega. BK-viiruse genotüüp S72390 ei esinda testribaga NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip kaetud geeni sihtpiirkonna polümorfisme. Uuring teostati iga 3 genotüübi 4 korduse testimisega 6 kontsentratsioonil (10-kordne lahuseeria). Lineaarsust kolme BKV genotüübi lõikes näitab Tabel 6 ja Joonis 5.

Tabel 6. Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip lineaarsus genotüüpide lõikes

Genotüüp	Lineaarsuse võrrand y = NeuMoDx BKV Assay Ct x = Lahuseeriaid	R ²
BK-viirus Dunlop	y = -3,4808x + 0,8595	0,9926
BK-viirus Gardner	y = -3,4682x + 0,6395	0,9959
BK/viirus AB269822_FIN-2	y = -3,432x + 1,2683	0,9947



Joonis5: Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip lineaarsus genotüüpide lõikes

Analüütiline spetsiifilisus – Ristreaktiivsus ^{10,11}

Analüütilist spetsiifilisust näidati, sõeludes 22 organismi, mida levinult leiab plasma-/seerumi- või uriiniproovidest, ja liigi suhtes, mis on fülogeneetiliselt sarnased BKV ristreaktiivsusele. Organismid valmistati ette 5–6 organismi kogumites ja neid testiti kõrge kontsentratsiooni juures. Testitud organismid on näidatud Tabel 7. Ühegi testitud organismi korral ei nähtud ristreaktiivsust, mis oleks kinnitanud analüüsi NeuMoDx™ Quant Assay 100% analüütilist spetsiifilisust.

Tabel 7. Patogeenid, mida kasutatakse analüütilise spetsiifilisuse tõendamiseks

Mittesihtorganismid					
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>	B-hepatiidi viirus	5. tüüpi adenoviirus	Epstein-Barri viirus	Tuulerõugeviirus	C-hepatiidi viirus
Lihtherpesviiruse 1. tüüp	Herpes Simplex viiruse 2. tüüp	Inimese herpesviiruse 6. tüüp	Inimese herpesviiruse 7. tüüp	Inimese herpesviiruse 8. tüüp	Inimese immuunpuudulikkuse viirus-1
Inimese immuunpuudulikkuse viirus-2	JC-viirus	SV40	<i>Tsütomegaloviirus</i>		

Analüütiline spetsiifilisus – segavad ained, kommensaalsed organismid ^{10,11}

Analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay hinnati mittesihtorganismide tekitatava interferentsi suhtes, kasutades ristreaktiivsuse testimiseks ettevalmistatud samu organismide kogumeid, mis on esitatud eespool Tabel 7. Negatiivset BKV plasmat rikastati 5-6-listes kogumites organismidega ja samuti BKV sihtmärgiga kontsentratsioon 4 log₁₀ IU/ml. Olulist interferentsi ei täheldatud nende kommensaalsete organismidega kokkupuutel, nagu näitas määratud kvantitatiivse väärtuse hälve kontrollproovidest, mis ei sisaldanud interferentsi tekitajat.

Analüütiline spetsiifilisus – Segavad ained, endogeensed ja eksogeensed ained ^{10,11}

Analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay toimivust hinnati BKV kliinilistes plasma-/seerumi või uriiniproovides levinud eksogeensete ja endogeensete interferentsi tekitavate ainetega kokkupuutel. Nende hulka kuulusid nii vere- kui uriinikomponentide liiga kõrged tasemed kui ka levinud viirusevastased ravimid, mis klassifitseeriti Tabel 8. Igat ainet lisati skriinitud BKV-negatiivsele BaseMatrix 53 lahustile või 3 log₁₀ IU/ml BKV-ga rikastatud inimese uriinile ning proove analüüsiti interferentsi suhtes. Kõigi testitud ainete keskmine kontsentratsioon ja nihked võrreldes kontrollproovidega, mida rikastati sama BKV tasemega, on esitatud Tabel 9. Mitte ükski eksogeenne või endogeenne aine ei mõjutanud analüüsi NeuMoDx™ BKV Quant Assay spetsiifilisust.

Tabel 8. Interferentsi testimine – eksogeensed ained (ravimiklass)

Kogum	Ravimi nimi	Klassifikatsioon
Kogum 1	Valgantsükloviir	VIIRUSEVASTANE
	Prednisoon	IMMUUNSUPRESSIIVNE
	Tsidofoviir	VIIRUSEVASTANE
	Tsefotaksiim	ANTIBIOOTIKUM
	Mükofenolaatmofetiil	IMMUUNSUPRESSIIVNE
Kogum 2	Vankomütsiin	ANTIBIOOTIKUM
	Takroliimus	IMMUUNSUPRESSIIVNE
	Famotidiin	HISTAMIINI ANTAGONIST
	Valatsükloviir	VIIRUSEVASTANE
	Leflunomiid	IMMUUNSUPRESSIIVNE

Tabel 9. Interferentsi testimine – eksogeensed ja endogeensed ained

Endogeenne (plasma/seerum)	Keskmine kont.	Nihe
	log ₁₀ IU/ml	log ₁₀ IU/ml
Triglütseriidid 500 mg/dl	3,09	0,16
Kongjugeeritud bilirubiin (0,25 g/l)	3,09	0,16
Konjugeerimata bilirubiin (0,25 g/l)	3,31	-0,06
Albumiin (58,7 g/l)	3,12	0,13
Hemoglobiin (2,9 g/l)	3,02	0,23
Endogeenne (uriin)	Keskmine kont.	Nihe
	log ₁₀ IU/ml	log ₁₀ IU/ml
Urobilirubiin (> 2 mg/dl)	3,74	-0,09
Glükoos (1000 mg/dl)	4,00	0,04
Uriini pH 4	3,75	0,29
Uriini pH 10	3,77	0,27
Leukotsüüdid (1E5 rakku/ml)	3,68	-0,06
Veri 7%	3,42	-0,32
Valk (albumiin > 100 mg/dl)	3,96	0,08
Talgipulber	3,92	0,12
Eksogeenne (ravimid)	Keskmine kont.	Nihe
	log ₁₀ IU/ml	log ₁₀ IU/ml
Kogum 1: Valgantsükloviir, prednisoon, tsidofoviir, tsefotaksiim, mükofenolaatmofetiil	4,04	-0,06
Kogum 2: Vankomütsiin, takroliimus, famotidiin, valatsükloviir, leflunomiid	4,07	-0,09

Reprodutseeritavus ja laborisisene täpsus¹⁴

Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip täpsus määrati, testides BKV proovide 5-liikmelist paneeli 2 kordust, mida valmistati BKV plasmiidiga kaks korda päevas, kasutades ühte seadet NeuMoDx™ 96 System 20 päeva jooksul. Määrati sarjasisene ja päevasisene täpsus ja üldiseks standardseks hälbeks määrati ≤ 0,30 log₁₀ IU/ml. Näidati suurepäraselt päevade- ja testideülest täpsust, nagu on näidatud Tabel 10. Kasutajate vahel ei määratud täpsust, kuna kasutaja ei ole proovide töötlemisel seadmega NeuMoDx™ System määrava tähtsusega.

Tabel 10. Laborisene täpsus – analüüs NeuMoDx BKV Quant Assay seadmetel NeuMoDx Systems

Proov	Päevasine SD (log ₁₀ IU/ml)	Päevavaheline SD (log ₁₀ IU/ml)	Sarjasine SD (log ₁₀ IU/ml)	Sarjavaheline SD (log ₁₀ IU/ml)	Laborisene SD (log ₁₀ IU/ml)
Plasma-/seerumiproov (sisend 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
Uriiniproov					
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

Partiidevaheline reprodutseeritavus¹⁴

Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip partiidevaheline reprodutseeritavus määrati, kasutades testribade NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip kolme erinevat partiid. BKV plasmiidiga valmistatud BKV 5-liikmelist paneeli kasutati ühe seadme NeuMoDx™ 96 Molecular System toimivuse hindamiseks 3 eraldi testiga. Analüüsi partiiseseid ja partiidevahelisi erinevusi ning tulemused esitati partiide vaheliste absoluutsete kvantifitseerimise nihetena, mida näitab *Tabel 11*. Maksimaalne üldnihe oli 0,27 log₁₀ IU/ml. Partiidides näidati samaväärset toimivust, kuna kõikide paneeli liikmete kvantifitseerimise väärtused olid tolerantsi määra piires.

Tabel 11. Partiidevaheline reprodutseeritavus – NeuMoDx BKV Quant Assay

Proov	Partii.1 ja partii.2 vaheline absoluutne nihe (log ₁₀ IU/ml)	Partii.1 ja partii.3 vaheline absoluutne nihe (log ₁₀ IU/ml)	Partii.2 ja partii.3 vaheline absoluutne nihe (log ₁₀ IU/ml)
Plasma-/seerumiproov (550 µl)			
7 log ₁₀ IU/ml	0,05	0,10	0,05
4 log ₁₀ IU/ml	0,02	0,03	0,05
3 log ₁₀ IU/ml	0,20	0,05	0,15
2 log ₁₀ IU/ml	0,02	0,24	0,26
0 log ₁₀ IU/ml	0,00	0,00	0,00
Uriiniproov (550 µl)			
7 log ₁₀ IU/ml	0,09	0,27	0,19
4 log ₁₀ IU/ml	0,25	0,06	0,19
3 log ₁₀ IU/ml	0,06	0,08	0,14
2 log ₁₀ IU/ml	0,03	0,11	0,14
0 log ₁₀ IU/ml	0,00	0,00	0,00

Seadmetevaheline reprodutseeritavus¹⁴

Testriba NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip seadmetevaheline reprodutseeritavus määrati kolme erineva seadme abil (kaks seadet NeuMoDx™ 288 Molecular System ja üks NeuMoDx™ 96 Molecular System). Toimivuse hindamiseks kasutati BKV plasmiidiga valmistatud 5-liikmelist BKV paneeli. Testimist teostati seadmetes paralleelselt 5 päeva. Määrati päevasine ja seadmetevaheline erinevus ja üldiseks standardseks hälbeks määrati ≤ 0,30 log₁₀ IU/ml. Samaväärset toimivust näidati kõikides seadmetes, kuna kõigi paneeli liikmete kvantifitseerimisel oli täpsustatud SD tolerantsi juures (*Tabel 12*).

Tabel 12. Seadmetevaheline reprodutseeritavus – NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

Proov	Korratavuse SD (log ₁₀ IU/ml)	Päevavaheline SD (log ₁₀ IU/ml)	Seadmesisene SD (log ₁₀ IU/ml)	Seadmevaheline SD (log ₁₀ IU/ml)	Taasesituse SD (log ₁₀ IU/ml)
Plasma-/seerumiproov (sisend 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
Uriiniproov					
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

VIITED

- Ambalathingal R, Francis R S *et al.* 2017. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. Clin Microbiol Rev 30(2):503-528.
- Reploeg MD, Storch GA, Clifford DB. Bk virus: a clinical review. 2001 Clin Infect Dis. 15;33(2):191-202.
- Navarro E, Serrano-Heras G *et al.* 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. Clin Chim Acta.15;439:231-50.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens, <https://www.osha.gov/lawsregs/regulations/standardnumber/1910/1910.1030>
- US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington, DC: US Government Printing Office, December 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—First Edition CLSI Document MM13-A. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005
- 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.
- 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.

KAUBAMÄRGID

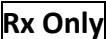













NeuMoDx™ on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärk.

TaqMan® on ettevõtte Roche Molecular Systems, Inc. registreeritud kaubamärk.

STAT-NAT® on ettevõtte SENTINEL CH. S.p.A. registreeritud kaubamärk.

Kõik muud tootenimed, kaubamärgid ja registreeritud kaubamärgid, mis võivad esineda selles dokumendis, on nende vastavate omanike omandid.

SÜMBOLID

SÜMBOL	TÄHENDUS
	Ainult retseptiga kasutamiseks
	Tootja
	Turustaja
	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade
	Katalooginumber
	Partii kood
	Lugege kasutusjuhendit
	Ettevaatust, lugege kaasasolevaid dokumente
	Temperatuuripiirangud
	Hoida kuivas
	Mitte korduskasutada
	Mitte jätta valguse kätte
	Sisaldab piisavalt <n> testi jaoks
	Kasutamiseks



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)
techsupport@neumodx.com

Järelevalve analüüs: www.neumodx.com/contact-us

Patent: www.neumodx.com/patents