


201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip
ВНИМАНИЕ: Само за износ в САЩ

За *инвитро* диагностика с NeuMoDx™ 288 и NeuMoDx™ 96 Molecular Systems

Тази листовка в опаковката трябва да бъде прочетена внимателно преди употреба на продукта. Листовката в опаковката съдържа инструкции, които трябва стриктно да се спазват.



При отклонения от инструкциите в тази листовка, надеждността на резултатите от анализа не може да бъде гарантирана.

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx™ 288 Molecular System; ном. № 40600108

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx™ 96 Molecular System; ном. № 40600317



ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

NeuMoDx™ BKV Quant Assay представлява автоматизиран, *инвитро* тест за амплификация на нуклеинови киселини за идентификация и количествено определяне на ДНК на вирус ВК (BK Virus, BKV) в аликвотни части, извлечени от човешка плазма/серум и урина. NeuMoDx BKV Assay се изпълнява на NeuMoDx™ 288 Molecular System и NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx™ System(s)) и включва автоматизирано извличане на ДНК за изолиране на прицелната нуклеинова киселина от пробата и полимеразна верижна реакция (Polymerase Chain Reaction, PCR) в реално време с прицелване към секвенции в генома на ВКV.

NeuMoDx BKV Quant Assay е предназначен да служи като помощно средство за диагностика и проследяване на ВК вирусна инфекция, заедно с други клинични и лабораторни находки.

РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ

Човешка цяла кръв, взета в стерилни епруветки за взимане на кръв, които съдържат EDTA като антикоагулант или в епруветки за подготовка на плазма (Plasma Preparation Tubes, PPT), може да се използва за подготовката на плазма, докато серумът трябва да се взема в епруветки за взимане на серум или епруветки със серумен сепаратор (Serum Separation Tubes, SST). За тестване на проба от урина, се взема аликвотна част от урина в стандартна чашка за взимане на урина, без консерванти или добавки. При подготовката за тестването, за започване на автоматизирано тестване, плазма/серум или урина, в първична или вторична епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx™ System, се зареждат в NeuMoDx™ System като се използва определен за целта носач за епруветки с проби. За проби от плазма/серум, 550 µL аликвотна част от пробата се смесва с NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 от апарата, или като алтернатива 100 µL аликвотна част от пробата плазма/серум се смесват с NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. За аликвотни части от урина, 550 µL аликвотна част се смесва с NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 от апарата. NeuMoDx™ System автоматично извършва всички необходими стъпки за извличането на прицелната нуклеинова киселина, подготовката на изолираната ДНК за амплификация с PCR в реално време и ако е налице, амплифицирането и откриването на продуктите на амплификацията. NeuMoDx™ BKV Quant Assay включва контрол за обработка на ДНК аликвотни части (Sample Process Control, SPC1), който помага при следенето за наличието на потенциално инхибиторни вещества и проблеми в NeuMoDx™ System или реактивите, евентуално възникнали по време на процедурите за извличане и амплификация.

ВК полиомавирус (BK Virus, BKV) е от семейство Polyomaviridae, двувъзвръжни ДНК (double-stranded DNA, dsDNA) вируси. BKV причинява често срещана детска инфекция без големи клинични последици и > 80% от възрастните са серопозитивни за BKV.¹ Първичната инфекция с този dsDNA вирус обикновено е асимптоматична и се проявява в детска възраст. Най-честите симптоми, когато се забелязват симптоми, са висока температура и неспецифична инфекция на горните дихателни пътища.² След възникване на първична инфекция вирусът може да остане латентен в много места, най-вече в бъбреците. Предаването може да се осъществи чрез експозиция на телесни течности. В състояния на относителен или абсолютен клетъчен имунодефицит вирусът може да се реактивира и да причини заболяване.²

Базираното на PCR количествено определяне на количеството вируси в плазмата/серума и урината е стандартният клиничен инструмент за проследяване на реактивирането на BKV. Проучвания на количествени резултати от PCR определяне на BKV, показват положителна корелация между по-високо количество вируси и повишената вероятност за развитие на BKV-свързана нефропатия (BKV-associated nephropathy, BKVAN)¹. Друг клиничен инструмент, използван за описание на агрегати BKV в урината, е електронната микроскопия, според която те приличат на разпръснати тримерни BKV агрегати. Все пак, поради цената и ограничената наличност на електронната микроскопия, този анализ не е подходящ за рутинна клинична практика.¹

ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

За извършване на анализ NeuMoDx™ BKV Quant Assay на система NeuMoDx™ System се използват 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 и NeuMoDx™ реактиви за обща употреба. Температурата на съхранение на реактивите е +15 °C/+30 °C.

Анализът NeuMoDx™ BKV Quant Assay съчетава автоматизирано извличане, амплификация и откриване на ДНК с PCR в реално време. Проба от плазма/серум или урина в епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx™ System, се поставя в носач за епруветки с проби, който след това се зарежда на NeuMoDx™ System за обработка. Друга намеса на оператора не е необходима.

NeuMoDx™ Systems използва комбинация от топлина, литичен ензим и реактиви за извличане, за да извършва автоматично лизиране на клетки, извличане на ДНК и отстраняване на инхибитори. Отделените нуклеинови киселини се улавят от парамагнитни частици. Частиците със свързаните нуклеинови киселини, се зареждат в NeuMoDx™ Cartridge, където несвързаните, несъдържащи ДНК компоненти допълнително се отмиват с NeuMoDx™ Wash Reagent, а свързаната ДНК се елуира с NeuMoDx™ Release Reagent.

След това NeuMoDx™ Systems използва елуираната ДНК, за да рехидратира Sentinel CH. патентовани лиофилизирани реактиви за амплификация (технология STAT-NAT™), съдържащи всички елементи, необходими за амплификация с PCR на прицелните BKV-специфични нуклеинови киселини и тези за SPC1. След разтваряне на лиофилизираните реактиви за PCR NeuMoDx™ System налива подготвената смес за PCR в NeuMoDx™ Cartridge. Амплификацията и откриването на контролната и прицелната секвенции от ДНК (ако има) се извършват в камерата за PCR на NeuMoDx™ Cartridge. NeuMoDx™ Cartridge е проектирана да задържа ампликона след PCR в реално време, с което на практика елиминира риска от контаминация след амплификацията.

Амплифицираните прицелни нуклеинови киселини се откриват в реално време посредством химични процеси с хидролизираща сонда (известна като TaqMan®) с флуорогенни молекули от олигонуклеотидната сонда, специфични за ампликоните на съответните им прицелни нуклеинови киселини.

Сондите TaqMan® се състоят от флуорофор, ковалентно свързан с край 5' на олигонуклеотидната сонда, и гасител в край 3'. Докато сондата е цяла, флуорофорът и гасителят са близо един до друг, при което молекулата на гасителя гаси флуоресценцията, излъчвана от флуорофора чрез резонансно предаване на енергия на Фьорстер (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Сондите TaqMan® са конструирани така, че да хибридизират в определен участък от ДНК, амплифициран със специфичен набор от праймери. Докато Таq ДНК полимеразата изтегля праймера и синтезира новата верига, действието на екзонуклеазата от край 5' до край 3' на Таq ДНК полимеразата разгражда хибридизираната към образеца сонда. Разграждането на сондата отделя флуорофора и го отдалечава от гасителя, при което се преодолява гасещото действие поради FRET и се създава възможност за откриване на флуоресценцията на флуорофора. Полученият флуоресцентен сигнал, засечен от NeuMoDx™ System при количествената PCR чрез апарата за циклична топлинна обработка, е право пропорционален на отделения флуорофор и е в корелация с наличното количество прицелна ДНК.³

За откриване на ДНК на BKV и SPC1 се използват сонди TaqMan® са белязани с флуорофори в край 5' и гасител в край 3'. Софтуерът на NeuMoDx™ System следи флуоресцентния сигнал, излъчван от сондите TaqMan в края на всеки амплификационен цикъл. След приключване на амплификацията, софтуерът на NeuMoDx™ System анализира данните и съобщава окончателен резултат (POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛЕН)/ NEGATIVE (ОТРИЦАТЕЛЕН)/ INDETERMINATE (НЕОПРЕДЕЛЕН)/ UNRESOLVED (НЕПОЛУЧЕН)/NO RESULT (НЯМА РЕЗУЛТАТ)). Ако резултатът е положителен и изчислената концентрация е в границите на количественото определяне, софтуерът на NeuMoDx System дава също така количествена стойност за аликвотната част.

РЕАКТИВИ/КОНСУМАТИВИ

Доставени материали

№	Съдържание	Единици на опаковка	Теста на единица	Теста на опаковка
201800	NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips <i>Леофилизирани реактиви за PCR, съдържащи BKV-специфични сонди TaqMan® и праймери и SPC1-специфични сонда TaqMan® и праймери.</i>	6	16	96

Реактиви и консумативи необходими, но непредоставени материали (предлагат се отделно от NeuMoDx)

№	Съдържание
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Суши парамагнитни частици, литичен ензим и контроли за обработка на аликвотни части</i>
800600	NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit <i>Набори за еднократна употреба от високи и ниски сухи калибратори за BKV за установяване на валидността на стандартната крива</i>
900601	NeuMoDx™ BKV External Control Kit <i>Набори за еднократна употреба от положителни и отрицателни сухи контроли BKV за всекидневно установяване на валидността на 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 връхчета (300 µL) с филтри
235905	Hamilton CO-RE връхчета (1000 µL) с филтри

Необходима апаратура

NeuMoDx™ 288 Molecular System [№ 500100] или NeuMoDx™ 96 Molecular System [№ 500200]

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip е само за *invitro* диагностика с NeuMoDx™ Systems.
- Преди да извършите теста, прочетете всички инструкции, съдържащи се в комплекта.
- Не използвайте реактивите и консумативите след посочения срок на годност.
- Не използвайте реактиви, ако са разпечатани или опаковката им е повредена при получаването.
- Не използвайте консумативи или реактиви с отворен или повреден защитен плик при получаването.
- Не смесвайте реактиви за амплификация от други набори, предлагани в търговската мрежа.
- Само за еднократна употреба.
- Съхранявайте всички NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips защитени от светлина и влага в техните алуминиеви пликове.
- Преди да могат да се генерират резултати от тестовете за клинични аликутни части, трябва да е извършена валидна калибрация на теста (генерирана от обработка на високи и ниски калибратори от NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit № 800600).
- По време на тестване с NeuMoDx™ BKV Quant Assay, на всеки 24 часа трябва да се обработва NeuMoDx™ BKV External Control Kit (№ 900601).
- Минималният обем от пробата зависи от размера на епруветката, носача за епруветки с проби и процедурата за обработка на обема от пробата, както е описано по-долу. Обем, по-малък от посочения минимум, може да доведе до грешка „Quantity Not Sufficient“ (Недостатъчно количество).
- Извършването на анализ за BKV на проби, съхранявани при неподходящи температури или след указаните срокове за съхранение, може да доведе до невалидни или грешни резултати при използване на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Контаминация с микроорганизми и дезоксирибонуклеаза (Deoxyribonuclease, DNase) на всички реактиви и консумативи трябва да се предотвратява. Ако се използват вторични епруветки се препоръчва да се ползват стерилни преносни пипети, несъдържащи дезоксирибонуклеаза (DNase). За всяка проба използвайте нова пипета.
- За да предотвратите контаминацията, не боравете и не разкъсвайте някоя от NeuMoDx™ Cartridge след амплификацията. В никакъв случай не изваждайте касети NeuMoDx™ Cartridges от съда за биорискови отпадъци (NeuMoDx™ 288 Molecular System) или от кошчето за биорискови отпадъци (NeuMoDx™ 96 Molecular System). NeuMoDx™ Cartridge е конструирана за предотвратяване на контаминация.
- В лабораториите, в които се извършват и тестове с PCR с отворени епруветки, трябва да се вземат мерки NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, допълнителните консумативи и реактиви, необходими за тестването, личните предпазни средства като ръкавиците и лабораторните престилки и NeuMoDx™ System да не се замърсват.
- При работа с реактиви и консумативи NeuMoDx™ трябва да се носят чисти ръкавици от нитрилен каучук, без талк. Трябва да се вземат мерки да не се докосва горната повърхност на NeuMoDx™ Cartridge, повърхността на запечатващото фолио на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip или NeuMoDx™ Extraction Plate, или горната повърхност на контейнери 1, 2 и 5 с NeuMoDx™ Lysis Buffer; при боравенето с консумативите и реактивите могат да се докосват само страничните повърхности.
- Информационни листове за безопасност (ИЛБ) са предоставени (съответно) за всеки реактив на адрес www.neumodx.com/client-resources.
- Вертикална лента в текстовото поле, е индикация за промени в сравнение с предходната версия на инструкциите за употреба.
- След извършване на теста измивайте грижливо ръцете си.
- Не пипетирайте с уста. Не пушете, не пийте и не се хранете на места, на които се борави с проби или реактиви.
- При работа с проби, винаги ги считайте за заразни и спазвайте процедурите за безопасна работа в лаборатория като описаните в стандарта OSHA за патогени, пренасяни в кръвта⁴, биологична защита ниво 2⁵ или други подходящи практики за биологична защита^{6,7}, прилагани при работа с материали, които съдържат или се предполага, че съдържат заразни агенти.
- Изхвърляйте неизползваните реактиви и отпадъците в съответствие с националните, федералните, регионалните, държавните и местните правила.
- Резултатите от анализа NeuMoDx™ BKV Quant Assay трябва да се интерпретират в контекста на всички други клинични и лабораторни заключения.
- Както при другите тестове, отрицателните резултати не изключват BKV инфекция.

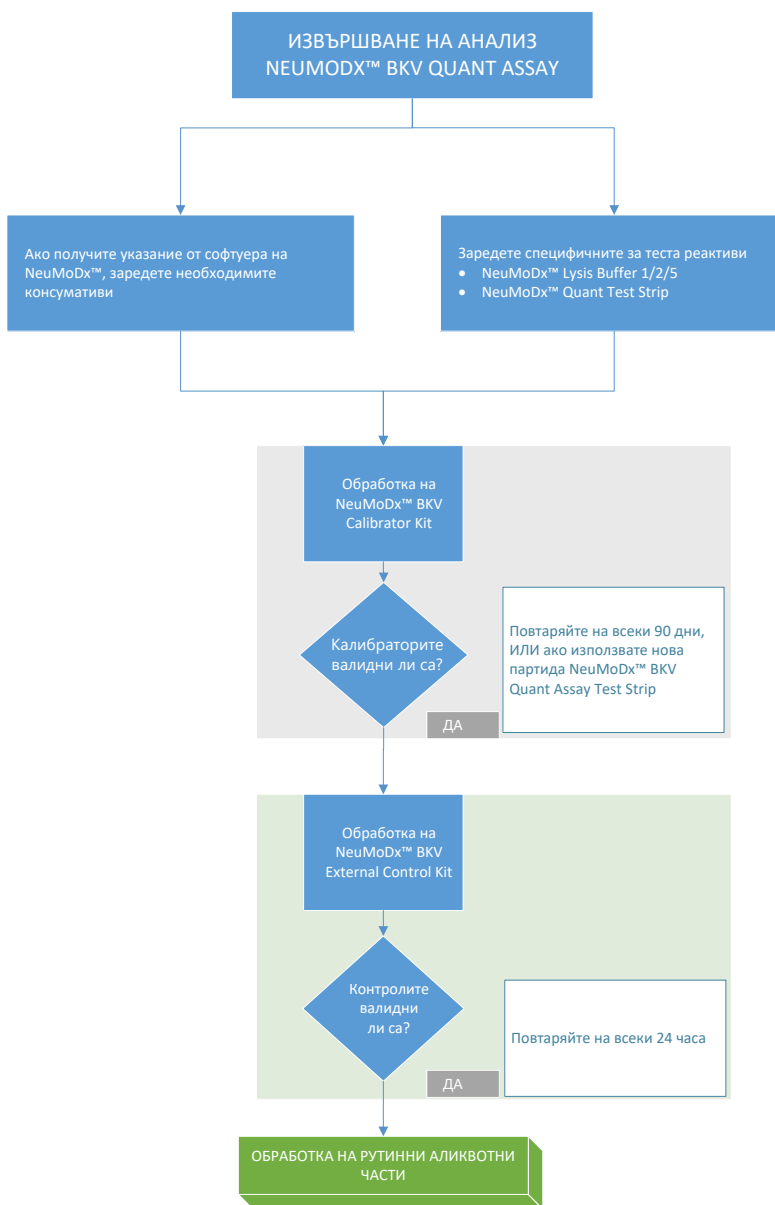
СЪХРАНЕНИЕ, БОРАВЕНЕ И СТАБИЛНОСТ НА ПРОДУКТИТЕ

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips са стабилни в първичната опаковка, при температури от 15 °C до 30 °C, до срока на годност, посочен на фабричния етикет на продукта.
- Една NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, заредена в NeuMoDx™ System, е стабилна в продължение на 32 дни; софтуерът на NeuMoDx™ System ще предупреди, че тест-лентите, останали заредени в NeuMoDx™ System повече от 32 дни, трябва да бъдат извадени и в NeuMoDx System да бъдат отворени и заредени нови NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips. Не отстранявайте алуминиевото фолио от лентата по време на зареждането в NeuMoDx System.
- Калибраторите и контролите NeuMoDx™ са неинфекциозни, но след употреба трябва да бъдат изхвърлени в лабораторните биорискови отпадъци, защото след обработка на системата, ще съдържат прицелния материал, който може да предизвика контаминация при неправилно боравене.

ВЗИМАНЕ, ПРЕНАСЯНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИ

1. С всички проби трябва да се борави като с материал, който може да предава инфекциозни агенти.
2. Не замразявайте цяла кръв или проби от плазма/серум, съхранявани в първични епруветки.
3. За подготовка на проби от плазма, трябва да се взема цяла кръв в стерилни епруветки с EDTA като антикоагулант. Серумни проби трябва да се подготвят в епруветки със серумен сепаратор. Аликвотните части от урина трябва да се вземат в стерилни епруветки или чаши. Спазвайте инструкциите на производителя на епруветките за взимане на проби.
4. Цяла кръв, взета в изброените по-горе изделия, може да се съхранява и/или пренася до 24 часа при 2 °C до 8 °C преди подготовката на плазмата/серума. Подготовката на аликвотните части трябва да се извършва в съответствие с инструкциите на производителя.
5. Съхранението на прясна необработена урина при стайна температура трябва да бъде сведено до минимум, тъй като ниското рН и високото съдържание на урея бързо денатурират ДНК, особено при температури от 25 °C и повече.
6. Подготвените проби от плазма/серум и урина могат да се съхраняват в NeuMoDx™ System до 24 часа преди обработка. При необходимост от по-дълго време за съхранение се препоръчва пробите да бъдат поставени в хладилник или фризер като вторични аликвотни части.
7. Преди тестване подготвените проби от плазма/серум и урина трябва да се съхраняват при температури от 2 °C до 8 °C, за не повече от 8 дни и максимум 24 часа при стайна температура.
8. Преди обработка подготвените проби могат да се съхраняват при < -20 °C до 8 седмици за плазма и 2 седмици за серум; преди употреба аликвотните части от плазма и серум не трябва да се подлагат на повече от 2 цикъла замразяване/размразяване:
 - a. Ако аликвотните части са замразени, ги оставете да се размразят напълно при стайна температура (15 °C – 30 °C); след което разбъркайте аликвотната част с вортекс, за да се разпредели равномерно.
 - b. След като замразените аликвотни части се размразят, трябва да се тестват в рамките на 24 часа.
 - c. Замразяване на плазма/серум в първични епруветки за взимане на проби не е препоръчително.
9. Веднъж обработени, аликвотните части от урина могат да се съхраняват при 2 °C до 8 °C.
10. Ако се налага транспортиране на проби, те трябва да бъдат опаковани и етикетирани в съответствие с действащите държавни и/или международни разпоредби.
11. Поставяйте ясни и четливи етикети на пробите, като посочите, че те са за тестване за BKV.
12. Преминете към раздел „Подготовка на теста“.

Общата процедура за извършване на NeuMoDx™ BKV Quant Assay е резюмирана в *Фигура 1*.



Фигура 1: Процедура за извършване на NeuMoDx BKV Quant Assay

ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Подготовка на теста

За аликвотни части от плазма/серум NeuMoDx BKV Quant Assay може да се извършва директно от първични епруветки за вземане на кръв или аликвотни части от пробата във вторични епруветки. Обработката може да се извършва с една от двете процедури за обработка на обеми на проба – процедура за обработка на обем 550 µL или процедура за обработка на обем 100 µL. Аликвотните части от урина се обработват, като се използва само процедурата за 550 µL обем на пробата.

1. Поставете етикет с баркода на пробата към епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx™ System. Първичната епруветка за вземане на кръв може да се етикетира и постави директно в носач за 32 епруветки за проби, след центрофугиране, съгласно указанията на производителя.
2. Ако тествате проба от плазма/серум в първична епруветка, поставете епруветката с баркода в носача за епруветки с проби и извадете запушалката преди зареждане в NeuMoDx System. Минималните обеми **над** гела/левкоцитния слой са дадени по-долу и ще бъдат спазени, ако пробите се взимат и обработват по инструкциите на производителя на епруветката. Работните характеристики не се гарантирани при неправилно взети проби.

Взимане на кръв Вид епруветка	Минимален необходим обем проба	
	Процедура за обем 550 µL	Процедура за обем 100 µL
SST – 3,5 mL	1550µL	1150µL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 µL	1400 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 µL	2150 µL
K ₂ EDTA/серум – 4,0 mL	1050 µL	650 µL
K ₂ EDTA/серум – 6,0 mL	1250 µL	850 µL
K ₂ EDTA/серум – 10,0 mL	1600 µL	1200 µL

3. За аликвотни части от урина или плазма/серум във вторична епруветка, прехвърлете аликвотна част от пробата в епруветка с баркод, съвместима с NeuMoDx System, като спазвате посочените по-долу обеми:

Носач за епруветки с проби	Размер на епруветката	Минимален необходим обем проба	
		Процедура за обем 550 µL	Процедура за обем 100 µL (Само епруветка с плазма/серум)
32-Tube Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби за 32 епруветки)	11 – 14 mm диаметър на 60 – 120 mm височина	700 µL	350 µL
24-Tube Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби за 24 епруветки)	14,5 – 18 mm диаметър на 60 – 120 mm височина	1100 µL	750 µL
Low Volume Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби с малък обем)	1,5-mL епруветка с конично дъно за микроцентрифуга	650 µL	250 µL

Работа с NeuMoDx System

Подробни указания ще намерите в Ръководствата за оператора на NeuMoDx™ 288 и 96 Molecular Systems (ном. № 40600108 и 40600317)

1. Заредете заявката за теста в NeuMoDx System в зависимост от избраната проба и тип епруветка:
 - 550 µL обем от пробата се тества, когато видът на пробата е дефиниран като **“Plasma”** (Плазма), **“Serum”** (Серум), или **“Urine”** (Урина)
 - 100 µL обем от пробата се тества, когато видът на пробата е дефиниран като **“Plasma2”** (Плазма2) или **“Serum2”** (Серум2)
 - Ако не е дефиниран в заявката за теста, по подразбиране ще се използва вид проба **Plasma** (Плазма) във **Secondary Tube** (Вторична епруветка).
2. Срежете алуминиевите пликосе с NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip в точката, обозначена със странични прорези.
3. Извадете лентите от пликосете непосредствено преди употреба.

4. Преди да използвате пликовете, винаги проверявайте дали са запечатани добре и пакетчето със сикатив е все още вътре. Използвайте само неповредени опаковки.
5. Изхвърлете алуминиевите пликове и тяхното съдържание, ако пакетчето със сикатив промени цвета си от оранжево в зелено.
6. Заредете един или повече носачи за тест-ленти NeuMoDx™ System с тест-ленти NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip(s) и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите с тест-лентите в NeuMoDx™ System.
7. Ако получите инструкция от софтуера на NeuMoDx™ System, добавете необходимите консумативи в носачите за консумативи на NeuMoDx™ System и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите в NeuMoDx™ System.
8. Ако получите инструкция от софтуера на NeuMoDx™ System, заменете NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, изпразните бутилката с отпадъци от запълването, съда за биорискови отпадъци (само за NeuMoDx 288 Molecular System), кошчето за отпадъци от връхчета (само за NeuMoDx 96 Molecular System), или кошчето за биорискови отпадъци (само за NeuMoDx 96 Molecular System).
9. Ако получите инструкция от софтуера на NeuMoDx™ System, обработете calibrators (№ 800600) и/или external controls (№ 900601) съгласно изискванията. Допълнителна информация за калибраторите и контролите ще намерите в раздела „*обработка на резултатите*“.
10. Заредете епруветките с проби/калибратори/контроли в стандартен носач за 32 епруветки и извадете запушалките на всички епруветки.
11. Поставете носача за епруветки с проби в някое от свободните места на полицата на автоматичното зареждащо устройство и използвайте сензорния екран, за да заредите носача в NeuMoDx™ System. Това ще стартира обработката на заредените проби за посочения(те) тест(ове), при положение, че в системата да има валидна заявка за тестване.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- The NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip може да се използва само на NeuMoDx™ Systems.
- Работните характеристики на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip са установени за проби от плазма и серум, приготвени от цяла кръв, взета с EDTA като антикоагулант, и проби от урина; употребата на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip с други видове клинични проби не е оценявана, а за други видове проби работните характеристики на теста не са известни.
- При използване на процедура за обработка на обем 100 µL от пробата е наблюдавано слабо повишение на границата на откриване и долната граница на количествено определяне на NeuMoDx BKV Quant Assay.
- NeuMoDx BKV Quant Assay не трябва да се използва с аликвотни части от хепаринизирани човешки проби.
- Тъй като откриването на BKV зависи от броя на организмите в аликвотната част, надеждните резултати зависят от правилното взимане, боравене и съхранение на пробите.
- Калибраторите и външните контроли трябва да се обработват съгласно препоръките в листовките в опаковките и ако получите указание от софтуера на NeuMoDx™ System преди обработката на рутинни клинични аликвотни части.
- Грешни резултати от тестовете могат да се получат при неправилно взимане, боравене и съхранение на проби, техническа грешка или объркване на епруветки с проби. Освен това грешни отрицателни резултати може да се получат и когато броят на вирусните частици в аликвотната част е под границата на откриване на NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- С NeuMoDx™ System може да работи само персонал, обучен в употребата на NeuMoDx™ System.
- Ако не се амплифицират прицелните нуклеинови киселини както за BKV, така и за SPC1, ще бъде съобщен невалиден резултат (Indeterminate (Неопределен), No Result (Няма резултат) или Unresolved (Неполучен)) и тестът трябва да бъде повторен.
- Ако резултатът от NeuMoDx™ BKV Quant Assay е Positive (положителен), но стойността на количественото определяне е извън границите, NeuMoDx™ System ще съобщи дали откритият BKV е бил под долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) или над горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- В случай, че откритият BKV е под LLoQ, the NeuMoDx™ BKV Quant Assay може да бъде повторен (ако е необходимо) с друга аликвотна част от пробата.
- В случай, че откритият BKV е над ULoQ, NeuMoDx™ BKV Quant Assay трябва да се повтори с разреждана аликвотна част от първоначалната проба. Препоръчителното разреждане е 1:1000 в BKV-отрицателна плазма или Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Концентрацията на първоначалната проба може да се изчисли по следния начин:
Концентрация на първоначалната проба = Log₁₀ (фактор на разреждане) + съобщена концентрация на разрежданата аликвотна част.
- Инцидентното наличие на инхибитори на PCR в плазма/серум или урина може да доведе до грешка в количественото определяне на системата; в този случай се препоръчва тестът да бъде повторен със същата проба, разреждана в Basematrix при съотношение 1:10 или 1:100.
- Положителен резултат не означава непременно наличие на жизнеспособни организми. Положителен резултат обаче говори за вероятно наличие на ДНК на BKV.
- Делеция или мутации в консервирани региони, прицелни за NeuMoDx™ BKV Quant Assay, може да повлияят на откриването или да доведат до грешен резултат с NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.

- Резултатите от NeuMoDx™ BKV Quant Assay трябва да се използват в допълнение към клиничните наблюдения и другата информация, с която лекарят разполага; тестът не е предвиден за диагностика на инфекция.
- Препоръчва се спазване на добрата лабораторна практика – включително смяната на ръкавиците при боравенето с всяка следваща проба от пациент, – за да се предотврати контаминация.

ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Наличните резултати могат да бъдат прегледани и разпечатани от раздела “Results” (Резултати) в прозореца Results (Резултати) на сензорния екран на NeuMoDx™ System.

Резултатите от NeuMoDx™ BKV Quant Assay се генерират автоматично от софтуера на NeuMoDx™ System с алгоритъм за взимане на решение и параметри за обработка на резултатите, посочени във файла с дефиниция за анализа (Assay Definition File, ADF) NeuMoDx™ BKV. В зависимост от състоянието на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина и контрола за обработката на аликвотните части, резултатът от A NeuMoDx™ BKV Quant Assay може да бъде съобщен като Negative (Отрицателен), Positive (Положителен) със съобщена концентрация на BKV, Positive (Положителен) над ULoQ, Positive (Положителен) под LLoQ, Indeterminate (Неопределен) (IND), Unresolved (Неполучен) (UNR) или No Result (Няма резултат) (NR). Резултатите се съобщават според алгоритъма за взимане на решение, обобщен в Таблица 1.

Таблица 1: Обобщение на алгоритъма за взимане на решение за NeuMoDx BKV Quant Assay

Резултат	BKV	Контрол за обработката на аликвотни части (Sample Process Control, SPC1)	Интерпретация на резултатите
Positive (Положителен) със съобщена концентрация	Amplified (Има амплификация) $1,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ (процедура 550 μL)* $2,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ (процедура 100 μL)*	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	ДНК на BKV е открита в количествения диапазон
Positive (Положителен), над горната граница на количествено определяне [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]	Amplified (Има амплификация) [BKV] > 8,0 $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	ДНК на BKV е открита над количествения диапазон
Positive (Положителен), под долната граница на количествено определяне [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]	Amplified (Има амплификация) [BKV] < 1,3 $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ (процедура 550 μL)* [BKV] < 2,3 $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ (процедура 100 μL)*	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	ДНК на BKV е открита под количествения диапазон
Negative (Отрицателен)	Not Amplified (Няма амплификация)	Amplified (Има амплификация)	ДНК на BKV не е открита
Indeterminate (Неопределен)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е приключена)		Всички резултати за прицелната нуклеинова киселина са невалидни; тествайте аликвотната част отново†
No Result (Няма резултат)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е прекратена)		Обработката на аликвотните части е прекратена; тествайте аликвотната част отново†
Unresolved (Неполучен)	Not Amplified, No System Error Detected (Няма амплификация, Не е установена грешка в системата)		Всички резултати за прицелната нуклеинова киселина са невалидни; тествайте аликвотната част отново†

* Процедура за обем 550 μL се използва с проби от плазма/серум и урина. Процедура за обем 100 μL се използва само с проби от плазма/серум.

† NeuMoDx System има възможност за автоматично изпълнение на Rerun (Повторна обработка)/Repeat (Повторение), която крайният потребител може да избере, за да бъде сигурно, че при IND (Неопределен)/NR (Неполучен)/UNR (Няма резултат) автоматично ще се извърши повторна обработка за минимално забавяне на съобщаването на резултатите.

Изчисляване на теста

1. За аликвотни части в рамките на диапазона на количествено определяне на NeuMoDx™ BKV Quant Assay концентрацията на ДНК на BKV в аликвотните части се изчислява със съхранената стандартна крива заедно с коефициента на калибрация и обема от пробата.
 - a. Коефициент на калибрация се изчислява на базата на резултатите от обработката на комплект за калибрация NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, за да се установи валидността на стандартната крива за конкретна партида NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip на дадена NeuMoDx™ System.
 - b. Коефициентът на калибрация се включва в окончателното определяне на концентрацията на ДНК на BKV.
 - c. Софтуерът на NeuMoDx отчита входния обем от пробата при определянето на концентрацията на ДНК на BKV на един mL проба.
2. Резултатите от NeuMoDx™ BKV Quant Assay се съобщават в Log_{10} IU/mL.
3. Крайното количествено определяне на неизвестните аликвотни части е проследимо по 1^{-вия} Международен стандарт на СЗО за вирус на BK (BKV) (14/212)⁹.

Калибрация на теста

Валидна калибрация според стандартната крива е необходима за количественото определяне на ДНК на BKV в пробите. За генерирането на валидни резултати трябва да се извърши калибрация на теста с калибратори, предоставени от NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Калибратори

1. Калибраторите NeuMoDx™ BKV се предлагат в комплект (№ 800600) и са съставени от изсушена гранула от синтетична BKV ДНК.
2. При зареждане на нов файл с дефиниция за анализа BKV в NeuMoDx™ System, ако текущият набор калибратори е с изтекъл срок на валидност (за момента – 90 дни), или ако софтуерът на NeuMoDx™ System бъде променен, с всяка нова партида NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips трябва да бъде обработен набор калибратори BKV.
3. Софтуерът на NeuMoDx™ System ще уведоми потребителя кога трябва да бъдат обработени калибраторите; докато калибраторите не бъдат успешно обработени, не може да се използва нова партида тест-ленти за тестването.
4. При необходимост от обработка на нов набор от BKV калибратори, прочетете всички инструкции, съдържащи се в листовката на NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, преди да извършите теста.
5. Валидността на калибрацията се установява по следния начин:
 - a) Набор от два калибратора – висок и нисък – трябва да се обработи, за да се установи валидността.
 - b) За генерирането на валидни резултати поне 2 от 3-те реплика трябва да дадат резултати в рамките на предварително дефинирани параметри. Номиналната прицелна стойност на нисък калибратор е 3 Log_{10} IU/mL, а тази на висок калибратор – 5 Log_{10} IU/mL.
 - c) Коефициент на калибрация се изчислява за отчитане на очакваната вариация между партидите тест-ленти; този коефициент на калибрация се използва при определянето на окончателната концентрация на BKV.
6. Ако единият или и двата калибратора не издържат проверката за валидност, обработката на неиздържалите проверката калибратори трябва да се повтори с ново шише. В случай че единият калибратор не издържи проверката за валидност, може да се повтори само неиздържалият калибратор – системата не изисква от потребителя да обработва повторно и двата калибратора.

Контрол на качеството

В местните разпоредби обикновено се посочва, че лабораторията отговаря за процедурите за вътрешен качествен контрол, чрез които се следи точността и прецизността на цялостния аналитичен процес, и трябва да установи броя, вида и честотата на тестването на контролните материали с проверени спецификации за работни характеристики за немодифицирана одобрена тестова система.

Външни контроли

1. Външни контроли BKV се предоставят от NeuMoDx Molecular, Inc. в BKV External Control Kit (№ 900601). Положителните контроли съдържат изсушена гранула от синтетична BKV ДНК.
2. Положителни и отрицателни външни контроли трябва да се обработват веднъж на всеки 24 часа. Ако не съществува набор валидни външни контроли, софтуерът на NeuMoDx™ System ще уведоми потребителя, че тези контроли трябва да се обработят, преди да могат да се съобщават резултати за аликвотните части.
3. Ако се изискват външни контроли, подгответе положителните и отрицателните контроли, както е посочено в листовката за NeuMoDx BKV External Control Kit, преди да извършите теста.
4. Като използвате сензорния екран и носача за епруветки с проби, поставен на полицата на автоматичното зареждащо устройство, заредете шишетата с положителните и отрицателните контроли в NeuMoDx™ System. NeuMoDx™ System ще разпознае баркода и ще започне обработката на епруветките за проби, освен ако няма достатъчно от необходимите за тестването реактиви или консумативи.
5. Валидността на външните контроли ще бъде оценена от NeuMoDx™ System според очаквания резултат. Положителният контрол трябва да даде Positive (положителен) резултат за BKV, а отрицателният контрол трябва да даде Negative (отрицателен) резултат за BKV.

6. Обработката на несъответстващи резултати за външни контроли трябва да се извърши по следния начин:
- Positive (Положителен) резултат от теста, съобщен за аликвотна част с отрицателен контрол, означава проблем с контаминация на пробата.
 - Negative (Отрицателен) резултат от теста, съобщен за аликвотна част с положителен контрол, може да означава проблем с реактив или апарата.
 - Във всеки от описаните по-горе случаи или ако резултатът е Indeterminate (Неопределен) (IND) или No Result (Няма резултат) (NR), обработката на външни контроли NeuMoDx™ BKV External Controls трябва да се повтори с пресни шишета от контролата(те), които не са издържали проверката за валидност.
 - Ако положителен външен контрол NeuMoDx™ BKV External Control продължава да дава резултат Negative (Отрицателен), се обърнете към отдела за обслужване на клиенти на NeuMoDx™.
 - Ако отрицателен външен контрол NeuMoDx™ BKV External Control продължава да дава резултат Positive (Положителен), се опитайте да отстраните всички потенциални източници на контаминация, включително като смените ВСИЧКИ реактиви, преди да се обърнете към отдела за обслужване на клиенти на NeuMoDx™.

(Вътрешни) контроли за обработка на аликвотни части

В NeuMoDx™ Extraction Plate е включен екзогенен контрол за обработка на аликвотни части (Sample Process Control, SPC1), преминаващ по целия процес за извличане и амплификация на нуклеинови киселини с PCR в реално време с всяка аликвотна част. Във всяка NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip са включени също и праймери и сонда, специфични за SPC1, позволяващи откриване на наличие на SPC1 заедно с прицелната ДНК на BKV (ако има) чрез мултиплексна PCR в реално време. Откриването на амплификация на SPC1 позволява на софтуера на NeuMoDx™ System да следи ефективността на процедурите за извличане на ДНК и амплификация с PCR.

Невалидни резултати

Ако NeuMoDx™ BKV Quant Assay, извършен на NeuMoDx™ System, не даде валиден резултат, резултатът ще бъде съобщен като Indeterminate (Неопределен) (IND), No Result (Няма резултат) (NR) или Unresolved (Неполучен) (UNR) според вида на възникналата грешка.

Ако по време на обработката на аликвотната част, бъде установена грешка в NeuMoDx™ System, ще бъде съобщен резултат IND. Ако бъде съобщен резултат IND, се препоръчва повторно тестване.

Резултат UNR ще бъде съобщен, ако не бъде открита валидна амплификация на ДНК на BKV или SPC1, което означава евентуален проблем в реактивите или наличие на инхибитори. Ако бъде съобщен резултат UNR, като първа стъпка може да се извърши повторно тестване. Ако и повторното тестване е неуспешно, разредена проба може да се използва за смекчаване на ефектите от евентуално инхибиране на аликвотната част.

Ако NeuMoDx BKV Quant Assay, извършен на NeuMoDx System, не даде валиден резултат и обработката на аликвотни части бъде прекратена преждевременно, резултатът ще се съобщи като No Result (Няма резултат) (NR). Ако бъде съобщен резултат NR, се препоръчва повторно тестване.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитична чувствителност – граница на откриване¹²

Аналитичната чувствителност на NeuMoDx™ BKV Quant Assay се характеризира с тестване на серия от разреждания на EDX BKV Verification Panel (Exact Diagnostics), калибрирана спрямо първия международен стандарт на СЗО за ВК вирус (BK virus, BKV) (14/212)⁹, в BKV-отрицателни аликвотни части от плазма/серум и урина, за определяне на границата на откриване (Limit of Detection, LoD) на NeuMoDx Systems. За аликвотни части от плазма/серум (550 µL) и урина, LoD се определя като най-близкото прицелно ниво, определено експериментално, над концентрацията, определена чрез анализ тип Probit с 95% доверителен интервал (Confidence Interval, CI). За аликвотни части от плазма/серум (100 µL) е изследвана концентрация на единична аликвотна част от 200 IU/mL чрез анализ на процента на съвпаденията и валидирана за LoD, ако процента на откриване е над 95%. Изследванията са извършени в продължение на 3 дни с различни системи, с различни партиди реактиви NeuMoDx™. При всяко ниво на разреждане всяка система обработва 42 репликати (положителни аликвотни части) и 8 повторения за отрицателни аликвотни части на ден. Процентите на откриване са представени в Таблицы 2 и 3.

Таблица 2: Проценти на откриване на положителен резултат за определяне на LoD на NeuMoDx BKV Quant Assay (плазма/серум 550 µL и урина)

Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Процедура ПЛАЗМА/СЕРУМ 550 µL			УРИНА		
		Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване	Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
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 %
Отрицателни	0,00	20	0	0 %	24	0	0 %

Таблица 3: Проценти на откриване на положителен резултат за определяне на LoD на NeuMoDx BKV Quant Assay (плазма/серум 100 µL)

Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [log ₁₀ IU/mL]	Процедура ПЛАЗМА/СЕРУМ 100 µL		
		Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
200	2,30	89	88	99%

LoD на количествения анализ NeuMoDx™ BKV Quant Assay в плазма/серум (процедура за 550 µL) се определя на 20 IU/mL (1,3 Log₁₀ IU/mL) с 95% доверителен интервал (Confidence Interval, CI) от 11,03; в урина LoD беше определено на 20,0 IU/mL (1,3 Log₁₀ IU/mL) с 95% доверителен интервал (Confidence Interval, CI) от 13,09; в плазма/серум (процедура за 100 µL) LoD беше определено на 200 IU/mL (2,3 Log₁₀ IU/mL).

Аналитична чувствителност – долна граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) и горна граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

Долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) и горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) се дефинират като най-ниското и най-високото целево ниво, при което е постигнато откриване > 95% И TAE ≤ 1,0. За определяне на LLoQ и ULoQ, беше изчислена общата аналитична грешка (Total Analytical Error, TAE) за всяко от целевите нива на BKV, за които е установено, че отчетат процент на откриване > 95%. TAE се дефинира по следния начин:

$$TAE = \text{отклонение} + 2 * SD \text{ [статистика на Westgard]}$$

Отклонението е абсолютната стойност на разликата между средната изчислена концентрация и очакваната концентрация. SD е стандартното отклонение на количествено определената стойност на аликвотната част.

Съкупните резултати за 5 нива на BKV аликвотни части от плазма/серум или урина, използвани в изследването за LLoQ/UloQ, са представени в *Таблицы 4 и 5*. Въз основа на този набор от данни и предварително определената LoD, бяха определени LLoQ и ULoQ като 20 IU/mL (1,3 Log₁₀ IU/mL) и 7,58x10⁷ IU/mL (тук приблизително до 8 Log₁₀ IU/mL), съответно за плазма/серум 550 µL и урина и 200 IU/mL (2,3 Log₁₀ IU/mL) за плазма/серум 100 µL.

Таблица 4: ULoQ и LLoQ за NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, с отклонение и TAE (плазма/серум 550 µL и урина)

Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Плазма/серум 550 µL					Урина				
		Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE	Средна концентрация [log ₁₀ IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	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

Таблица 5: ULoQ и LLoQ за NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, с отклонение и TAE (плазма/серум 100 µL)

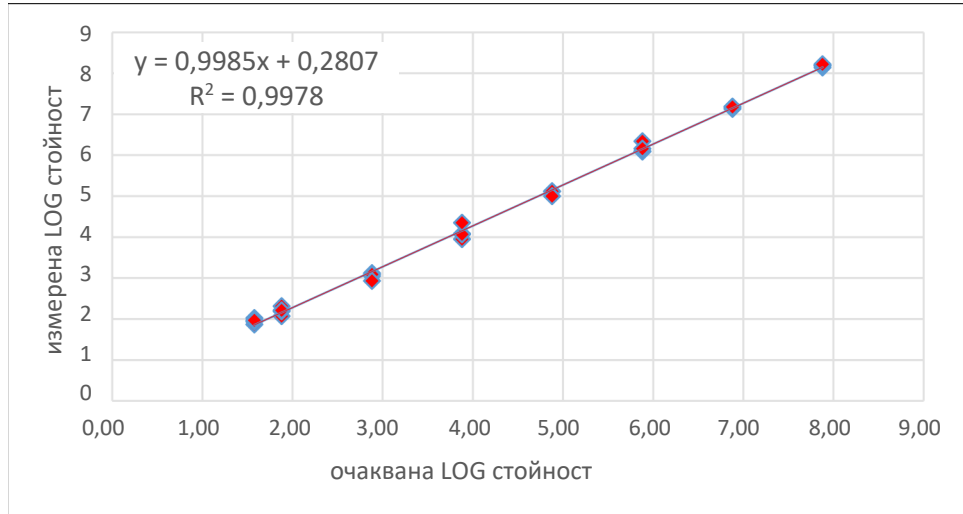
Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Плазма/серум 100 µL				
		Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE
7,58x10 ⁷	8	8	100	0,09	0,07	0,25
200	2,30	2,30	99	0,39	0,003	0,78

Въз основа на резултатите от тези проучвания, LoD и LLoQ на количествения анализ NeuMoDx™ BKV Quant Assay бяха определени като 20 IU/mL (1,3 Log₁₀ IU/mL) за плазма/серум и урина с процедура за 550 µL и 200 IU/mL (2,30 Log₁₀ IU/mL) за плазма/серум при използване на процедура за 100 µL. ULoQ за всички видове проби е 7,58x10⁷ IU/mL (8 Log₁₀ IU/mL).

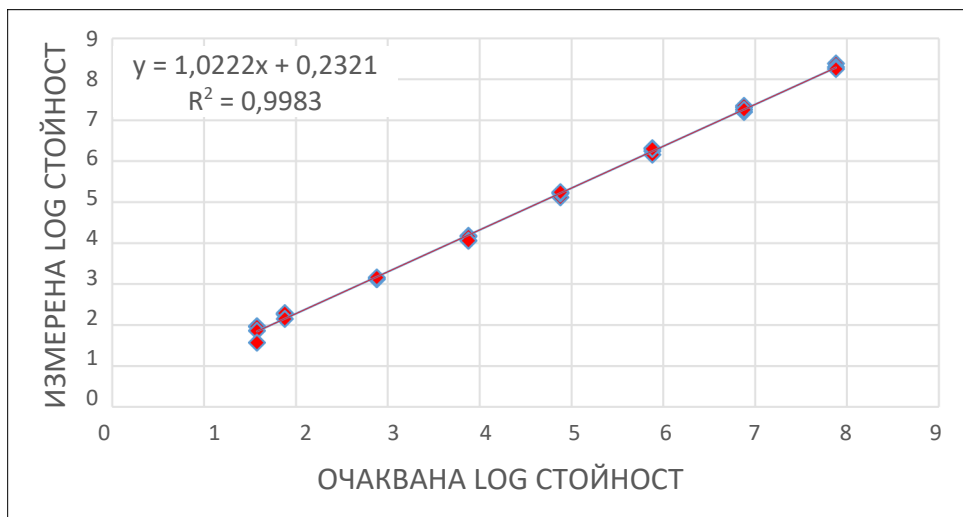
Линейност¹³

Линейността на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip е установена в плазмата/серума и урината чрез изготвяне на серия от разреждания, използвайки синтетичен плазмид BKV Synthetic Plasmid (Integrated DNA Technologies) с установена проследимост до 1st международен стандарт на СЗО за BK вирус (BK Virus, BKV) (14/212)⁹. Създадени са 11 серийни разреждания на синтетичен плазмид BKV, приготвени в BKV отрицателна BaseMatrix 53 или обединена BKV-отрицателна човешка урина, за да обхване концентрационния диапазон от 7,88 – 1,58 log₁₀ IU/mL за плазма/серум 550 µL и урина и концентрационен диапазон от 6,88 – 2,88 log₁₀ IU/mL за плазма/серум 100 µL.

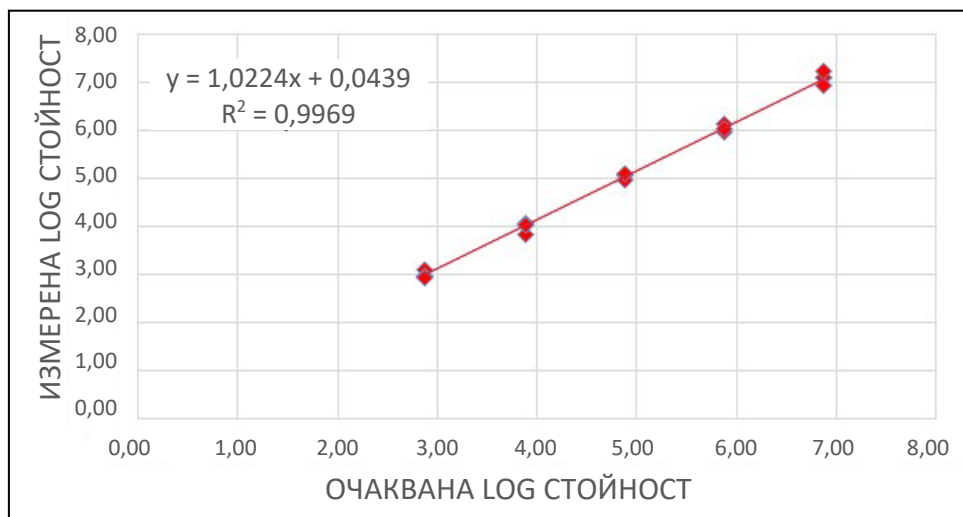
Концентрациите от анализа за BKV, отчетени от NeuMoDx™ System, сравнени с очакваните стойности са представени на *Фигури 2, 3 и 4*.



Фигура 2: Линейност на количествения анализ на NeuMoDx™ BKV Quant Assay за плазма/серум (процедура за 550 µL)



Фигура 3: Линейност на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip за проби от урина



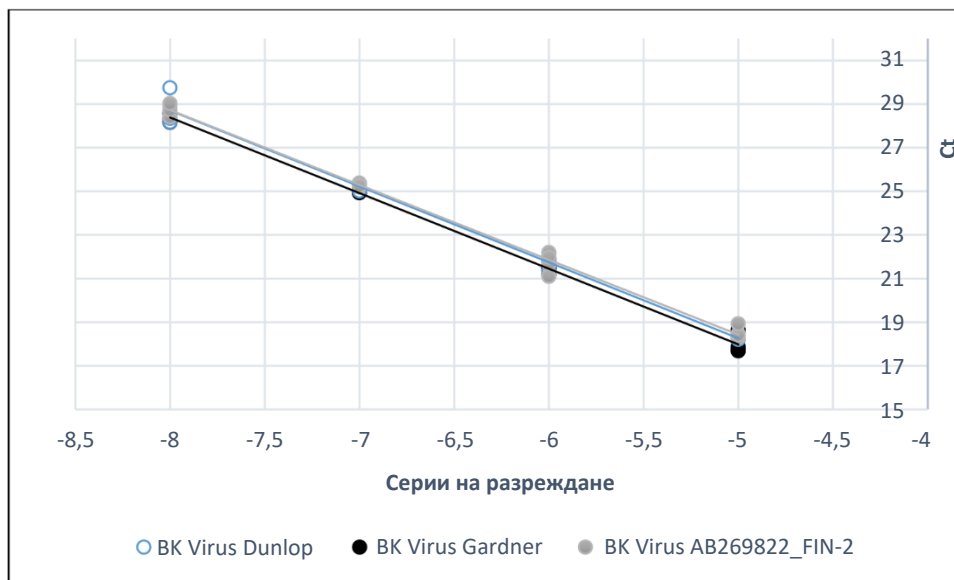
Фигура 4: Линейност на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip за плазма/серум (процедура за 100 µL)

Линейност по всички генотипове¹⁶

Линейността на NeuMoDx BKV Quant Assay при три BKV генотипа (BK Virus Dunlop, BK Virus Gardner, BK Virus AB269822_FIN-2) е охарактеризирана с тестване на четири различни концентрации на всеки генотип на BKV, приготвен в BKV отрицателна базова матрица 53. Генотипът BK Virus S72390 не показва присъствие на полиморфизми в целевата област на гена, покрита от NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip. Изследването е извършено с тестване на 4 репликата на всеки от 3-те генотипа при 6 концентрации (сери с 10кратно разреждане). Линейността по четирите генотипа на BKV е представена в Таблица 6 и Фигура 5.

Таблица 6: Линейност на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip по всички генотипове

Генотип	Уравнение за линейност $y = \text{NeuMoDx BKV Assay Ct}$ $x = \text{сери на разреждане}$	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



Фигура 5: Линейност на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip по всички генотипове

Аналитична специфичност – кръстосана реактивност ^{10,11}

Аналитичната специфичност е демонстрирана със скрининг на 22 организма, често срещани в проби от плазма/серум или урина, както и видове, филогенетично сходни с BKV, за кръстосана реактивност. Организмите са подготвени в групи по 5-6 организма и са тествани при висока концентрация. Тестваните организми са представени в Таблица 7. Не се наблюдава кръстосана реактивност с нито един от тестваните организми, което потвърждава 100% аналитична специфичност на NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Таблица 7: Патогени, използвани за демонстриране на аналитична специфичност

Неприцелни организми					
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>	Вирус на хепатит В	Аденовирус тип 5	Вирус на Epstein-Barr	Вирус на варицела зостер	Вирус на хепатит С
Вирус херпес симплекс тип 1	Вирус херпес симплекс тип 2	Човешки вирус херпес тип 6	Човешки вирус херпес тип 7	Човешки вирус херпес тип 8	Човешки имунодефицитен вирус -1
Човешки имунодефицитен вирус -2	JC вирус	SV40	<i>Цитомегаловирус</i>		

Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, коменсални организми ^{10,11}

NeuMoDx™ BKV Quant Assay е проверен за интерференция в присъствието на неприцелни организми със същите групи организми като подготвените за тестването на кръстосаната реактивност, изброени по-горе в Таблица 7. В BKV-отрицателна плазма са добавени организмите, групирани по 5–6, и също така е добавена прицелна нуклеинова киселина на BKV при концентрация 4 Log₁₀ IU/mL. Не се наблюдава съществена интерференция в присъствието на тези коменсални организми, за което свидетелства минималното отклонение на количественото определяне от контролните проби, които не съдържат интерфериращ агент.

Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, ендогенни и екзогенни вещества ^{10,11}

NeuMoDx™ BKV Quant Assay е проверен в присъствието на типични екзогенни и ендогенни интерфериращи вещества, срещани в клинични проби от плазма/серум или урина с BKV. Те включват абнормно високи нива на компоненти от кръв и урина, както и обичайни антивирусни лекарства, класифицирани в Таблица 8. Всяко вещество е добавено към подбрана BKV-отрицателна BaseMatrix 53 или човешка урина с добавени 3 Log₁₀ IU/mL BKV и аликвотните части са анализирани за интерференция. Средната концентрация и отклонението на всички тествани вещества в сравнение с контролни аликвотни части с добавено същото ниво на BKV са представени в Таблица 9. Нито едно от екзогенните и ендогенните вещества не се отразява на специфичността на NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Таблица 8: Тестване за интерференция – екзогенни агенти (класификации на лекарствата)

Група	Име на лекарството	Класифициране
Група 1	Валганцикловир	АНТИВИРУСНО ЛЕКАРСТВО
	Преднизон	ИМУНОСУПРЕСИВНО ЛЕКАРСТВО
	Цидофовир	АНТИВИРУСНО ЛЕКАРСТВО
	Цефотаксим	АНТИБИОТИК
	Микофенолат мофетил	ИМУНОСУПРЕСИВНО ЛЕКАРСТВО
Група 2	Ванкомицин	АНТИБИОТИК
	Такролимус	ИМУНОСУПРЕСИВНО ЛЕКАРСТВО
	Фамотидин	ХИСТАМИН - АНТАГОНИСТ
	Валацикловир	АНТИВИРУСНО ЛЕКАРСТВО
	Лефлуномид	ИМУНОСУПРЕСИВНО ЛЕКАРСТВО

Таблица 9: Тестване за интерференция – екзогенни и ендогенни агенти

Ендогенно вещество (плазма/серум)	Средна концентрация	Отклонение
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Триглицериди 500 mg/dL	3,09	0,16
Конюгиран билирубин (0,25 g/L)	3,09	0,16
Неконюгиран билирубин (0,25 g/L)	3,31	-0,06
Албумин (58,7 g/L)	3,12	0,13
Хемоглобин (2,9 g/L)	3,02	0,23
Ендогенно вещество (урина)	Средна концентрация	Отклонение
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Уробилирубин (> 2 mg/dL)	3,74	-0,09
Глюкоза (1000 mg/dL)	4,00	0,04
Урина pH 4	3,75	0,29
Урина pH 10	3,77	0,27
Левкоцити (1E5 клетки/mL)	3,68	-0,06
Кръв 7%	3,42	-0,32
Протеин (албумин > 100 mg/dL)	3,96	0,08
Талк, прахообразен	3,92	0,12
Екзогенни (лекарства)	Средна концентрация	Отклонение
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Група 1: Валганцикловир, преднизон, цидофовир, цефотаксим, микофенолат мофетил	4,04	-0,06
Група 2: Ванкомицин, такролимус, фамотидин, валацикловир, лефлуномид	4,07	-0,09

Възпроизводимост и в рамките на лабораторната прецизност¹⁴

Прецизността на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip е определена с тестване на 2 репликата от панел от 5 проби с BKV, приготвян с BKV плазмид два пъти дневно, с използване на NeuMoDx™ 96 System в продължение на 20 дни. Характеризирани са прецизността на системата в рамките на обработка и в рамките един ден, както и общото стандартно отклонение, определено като $\leq 0,30 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$. Демонстрирана е отлична прецизност в различните дни или обработки, както се вижда от *Таблица 10*. Прецизността между различните оператори не е характеризирана, защото операторът не играе съществена роля при обработката на аликвотни части с NeuMoDx™ System.

Таблица 10: Вътрешнолабораторна прецизност – NeuMoDx BKV Quant Assay на NeuMoDx Systems

Аликвотна част	SD в рамките на деня (Log ₁₀ IU/mL)	SD между дните (Log ₁₀ IU/mL)	SD в рамките на обработката (Log ₁₀ IU/mL)	SD между обработките (Log ₁₀ IU/mL)	SD вътрешнолабораторно (Log ₁₀ IU/mL)
Проби от плазма/серум (входни 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
Проби от урина					
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

Възпроизводимост на резултатите от различни партии ¹⁴

Възпроизводимост от партида до партида на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip е определена с използване на три различни партии ленти NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips. За оценка на ефективността на една NeuMoDx™ 96 Molecular System в 3 отделни цикъла на обработка беше използван 5-членен панел от BKV, приготвен с BKV плазмид. Анализирани е вариацията в рамките на една партида и между различните партии, представена като абсолютно количествено определяне в Таблица 11. Максималното цялостно отклонение е 0,27 Log₁₀ IU/mL. Равностойността на работните характеристики между различните партии е демонстрирана, като количественото определяне на всички елементи от панела е в рамките на допустимото отклонение по спецификация.

Таблица 11: Възпроизводимост на резултатите от различни партии – NeuMoDx BKV Quant Assay

Аликвотна част	Абсолютно отклонение между партида 1 и партида 2 (Log ₁₀ IU/mL)	Абсолютно отклонение между партида 1 и партида 3 (log ₁₀ IU/mL)	Абсолютно отклонение между партида 2 и партида 3 (log ₁₀ IU/mL)
Проби от плазма/серум (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
Проби от урина (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

Възпроизводимост между отделни апарати¹⁴

Възпроизводимостта на NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip между отделни апарати бе определена с използване на три различни системи (две NeuMoDx™ 288 Molecular System и една NeuMoDx™ 96 Molecular System). За оценка на работните характеристики е използван панел от 5 проби BKV, подготвени с BKV плазмид. Тестването е извършено на паралелни системи в продължение на 5 дни. Характеризирани са отклоненията в рамките на деня и между системите, като общото стандартно отклонение бе определено като ≤ 0,30 Log₁₀ IU/mL. Равностойността на работните характеристики между различните партии е демонстрирана, като стандартното отклонение (Standard Deviation, SD) в количественото определяне на всички елементи от панела е в рамките на допустимото отклонение по спецификация (Таблица 12).

Таблица 12: Възпроизводимост на резултатите от различни апарати – NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

Аликвотна част	SD повторяемост (Log ₁₀ IU/mL)	SD между дните (Log ₁₀ IU/mL)	SD в рамките на апарата (Log ₁₀ IU/mL)	SD между апаратите (Log ₁₀ IU/mL)	SD възпроизводимост (Log ₁₀ IU/mL)
Проби от плазма/серум (входни 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
Проби от урина					
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

ЦИТИРАНИ ИЗТОЧНИЦИ

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.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

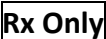













NeuMoDx™ е търговска марка на NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® е регистрирана търговска марка на Roche Molecular Systems, Inc.

STAT-NAT® е регистрирана търговска марка на SENTINEL CH. S.p.A.

Всички останали наименования на продукти, търговски марки и регистрирани търговски марки, фигуриращи в настоящия документ, са собственост на съответните им притежатели.

СИМВОЛИ

СИМВОЛ	ЗНАЧЕНИЕ
	За употреба само по лекарско предписание
	Производител
	Дистрибутор
	Медицинско изделие за <i>инвитро</i> диагностика
	Каталожен номер
	Код на партида
	Направете справка с инструкциите за употреба
	Внимание, консултирайте се с придружаващите документи
	Ограничение за температура
	Да се поддържа суха
	Само за еднократна употреба
	Да не се излага на светлина
	Съдържанието е достатъчно за <n> теста
	Срок на годност



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

Докладване на бдителност:
www.neumodx.com/contact-us

Патент: www.neumodx.com/patents