



201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

FIGYELEM! Kizárólag az Egyesült Államokból történő exportra



A NeuMoDx™ 288 és NeuMoDx™ 96 Molecular System rendszerrel való *in vitro* diagnosztikai használatra

A csomaghoz mellékelt terméktájékoztatót figyelmesen el kell olvasni a termék használata előtt. A csomaghoz mellékelt terméktájékoztatónak megfelelően kell eljárni.



Az assay csomaghoz mellékelt terméktájékoztatójától való bármilyen eltérés esetén nem garantálhatók megbízható eredmények.

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx™ 288 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600108)

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx™ 96 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600317)



ALKALMAZÁSI TERÜLET

A NeuMoDx™ BKV Quant Assay egy automatizált, *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt a BK vírus (BKV) DNS, humán plazmából/szérumból, illetve vizeletből kivont mintákban való azonosítására és mennyiségi meghatározására. A NeuMoDx™ 288 Molecular System és a NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx™ System(s)) készülékeken használt NeuMoDx BKV Assay részét képezi a célnukleinsav mintából történő izolálására szolgáló automatikus DNS-extrakció, valamint a BKV genomban található szekvenciákat megcélzó valós idejű polimeráz-láncreakció (Polymerase Chain Reaction, PCR).

A NeuMoDx BKV Quant Assay a BK vírus okozta fertőzés diagnózisához és monitorozásához ad segítséget más klinikai és laboratóriumi eredményekkel együttesen.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MAGYARÁZAT

A plazma előkészítéséhez antikoagulánsként EDTA-t tartalmazó steril vérvételi csövekbe vagy plazmaelőkészítő csövekbe (Plasma Preparation Tube, PPT) vett humán teljes vér használható, a szérumot pedig szérumgyűjtő csövekbe vagy -szeparációs csövekbe (Serum Separation Tube, SST) kell gyűjteni. Vizeletminta vizsgálatához a vizeletmintát tartósítószerrel vagy adalékanyagokat nem tartalmazó, standard vizeletgyűjtő pohárba kell gyűjteni. A vizsgálat előkészítéséhez a NeuMoDx™ System készülékkel kompatibilis elsődleges vagy másodlagos mintacsőben lévő plazmát/szérumot vagy vizeletet be kell tölteni a NeuMoDx™ System készülékbe egy erre a célra szolgáló mintacsőtartóban az automatikus feldolgozás elkezdéséhez. Plazma-/szérumminták esetében a rendszer 550 µl mintaalkivatot összekever a készülékben lévő NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 lízispufferrel. Másik lehetőségként 100 µl plazma-/szérum-mintaalkivatot kever össze NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 lízispufferrel. Vizeletminták esetében a rendszer 550 µl mintaalkivatot összekever a készülékben lévő NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 lízispufferrel. A NeuMoDx™ System automatikusan elvégzi a célnukleinsav extrahálásához szükséges összes lépést, előkészíti az izolált DNS-t a valós idejű PCR-amplifikációra, és ha jelen van, amplifikálja, majd kimutatja az amplifikációs termékeket. A NeuMoDx™ BKV Quant Assay részét képezi egy DNS mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1), amely segítségével monitorozható a potenciálisan gátló anyagok jelenléte, illetve a NeuMoDx™ System készülék és a reagensek, az extrakció és az amplifikációs folyamatok során észlelhető hibái.

A BK polyomavírus (BK polyomavirus, BKV) a kettős szálú DNS (double-stranded DNA, dsDNA) vírusok Polyomaviridae családjának tagja. A BKV fontosabb klinikai következmények nélküli, gyakran előforduló gyermekkori fertőzést okoz; a felnőttek > 80%-a BKV-szeropozitív.¹ Az elsődleges fertőzés ezzel a dsDNA-vírussal általában tünetmentesen zajlik és gyermekkorban következik be. A leggyakoribb tünetek (ha megfigyelhetők) a láz és a nem specifikus felső légúti fertőzés.² Az elsődleges fertőzés után a vírus látens több helyen is a szervezetben maradhat, leginkább a vesékben. A fertőzés testnedv-expozíció útján adható át. Relatív vagy abszolút celluláris immunhiányos állapotokban a vírus újraaktiválódhat és betegséget okozhat.²

A vírussterhelés PCR-alapú mennyiségi meghatározása a plazmában/szérumban és vizeletben a BKV-újraaktiválódás monitorozásának standard klinikai eszköze. A kvantitatív BKV PCR eredményeket jelentő vizsgálatok pozitív korrelációt mutatnak a magasabb vírussterhelés és a BKV-asszociált nefropátia (BKV-associated nephropathy, BKVAN) kialakulásának fokozott valószínűsége között.¹ A vizeletben található BKV-aggregátumok leírására használt egyéb klinikai eszköz az elektronmikroszkópos vizsgálat, amely cilinderszerű háromdimenziós BKV-aggregátumok jelenlétét detektálja. Az assay azonban nem alkalmas a rutin klinikai gyakorlatban való használatra költséges mivolta és az elektronmikroszkópos vizsgálatok korlátozott hozzáférhetősége miatt.¹

AZ ELJÁRÁS ELVE

A NeuMoDx™ System készüléken elvégzett NeuMoDx™ BKV Quant Assay, a következőket használja az elemzés elvégzéséhez: 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 és NeuMoDx™ általános felhasználású reagensek. A reagensek tárolási hőmérséklete +15/+30 °C.

A NeuMoDx™ BKV Quant Assay az automatikus DNS-extrakciót, -amplifikációt és -detektálást kombinálja a valós idejű PCR-módszerrel. A NeuMoDx™ System készülékkel kompatibilis elsődleges vagy másodlagos mintacsövekben lévő plazma-/szérum- vagy vizeletmintákat mintacsőtartóba kell helyezni, amelyet aztán be kell tölteni a NeuMoDx™ System készülékbe a feldolgozáshoz. További kezelői beavatkozásra nincs szükség.

A NeuMoDx™ Systems készülékek hő, lítikus enzim és extrakciós reagensek kombinálásával automatikusan végzi a sejtlízist, a DNS-extrakciót és az inhibitorok eltávolítását. A felszabaduló nukleinsavakat paramágneses részecskék segítségével fogják be. A részecskéket a hozzájuk kötődő nukleinsavakkal együtt behelyezik a NeuMoDx™ Cartridge kazettába, ahol a NeuMoDx™ Wash Reagent kimossa a nem kötődő, nem DNS összetevőket, a NeuMoDx™ Release Reagent pedig eluálja a kötött DNS-t. A NeuMoDx™ Systems rendszer ezután az eluált DNS segítségével rehidratálja a szabadalmazott, fagyasztással szárított Sentinel CH. amplifikációs reagenseket (STAT-NAT™ technológia), amelyek a BKV-specifikus és az SPC1-célszekvenciák PCR-amplifikációjához szükséges összes elemet tartalmazzák. A liofilizált PCR-reagensek rekonstitúciójakor a NeuMoDx™ System kiadagolja az előkészített, PCR-hez való, használatra kész keveréket a NeuMoDx™ Cartridge kazettába. A kontroll és a cél DNS-szekvenciák (ha jelen vannak) amplifikációja és detektálása a NeuMoDx™ Cartridge PCR-kamrájában történik. Kialakítása révén a valós idejű PCR-t követően a NeuMoDx™ Cartridge tartalmazza az amplikont, ezáltal lényegében kiküszöbölhető az amplifikáció utáni kontamináció kockázata.

Az amplifikált célszekvenciák detektálása valós időben, hidrolízispróba (általában használt elnevezése TaqMan® próba) segítségével történik, ahol a megfelelő célszekvenciákat tekintve az amplikonokra specifikus fluorogén oligonukleotid próbamolekulákat használnak.

A TaqMan® próbák egy, az oligonukleotid próba 5' végéhez kovalens kötéssel kötődő fluorofór- és a 3' végén egy quencher molekulát tartalmaznak. Amíg a próba ép, a fluorofór és a quencher molekula egymáshoz közel helyezkednek el, ami azt eredményezi, hogy a quencher molekula FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Förster-féle rezonáns energiaátadás) révén kioltja a fluorofór által kibocsátott fluoreszcenciát.

Kialakításuk révén a TaqMan® próbák feltapadnak a primerek specifikus csoportja által amplifikált DNS-régió belüli. Amint a Taq DNS-polimeráz meghosszabbítja a primert és szintetizálja az új szálát, a Taq DNS-polimeráz 5'–3' exonukleáz aktivitása lebontja a templátra feltapadt próbát. A próba lebomlásakor a fluorofór felszabadul és távolabb kerül a quencher-től, így a FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Förster-féle rezonáns energiaátadás) révén leküzdí a kioltó hatást és lehetővé teszi a fluorofór fluoreszcenciás detektálását. A NeuMoDx™ System kvantitatív PCR-készülékben detektált fluoreszcens jel egyenesen arányos a felszabadult fluorofórral, és összefügg a jelen lévő cél DNS mennyiségével.³

A BKV DNS és SPC1 DNS detektálásához az 5' végén fluorofórokkal, a 3' végén pedig quencherrel megjelölt TaqMan® próbákat használnak. A NeuMoDx™ System szoftvere monitorozza a TaqMan próbák által, az egyes amplifikációs ciklusok végén kibocsátott fluoreszcens jeleket. Az amplifikáció befejeztével a NeuMoDx™ System szoftvere elemzi az adatokat és végső eredményt ad (POSITIVE [Pozitív] / NEGATIVE [Negatív] / INDETERMINATE [Nem eldönthető] / UNRESOLVED [Megoldatlan] / NO RESULT [Nincs eredmény]). Ha az eredmény pozitív és a kiszámított koncentráció a mennyiségi meghatározás határain belül esik, a NeuMoDx System szoftvere a mintával kapcsolatos kvantitatív értéket is megad.

REAGENSEK/FOGYÓESZKÖZÖK

Szállított anyagok

REF	Tartalom	Egység/csomag	Teszt/egység	Teszt/csomag
201800	NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip BKV-specifikus TaqMan® próbákat és primereket és SPC1-specifikus TaqMan® próbát és primereket tartalmazó, fagyasztva szárított PCR-reagensek.	6	16	96

Szükséges, de nem biztosított reagensek és fogyóeszközök (külön kaphatók a NeuMoDx vállalattól)

REF	Tartalom
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate Szárított paramágneses részecskék, lítikus enzim és mintafeldolgozási kontrollok
800600	NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit A standard görbe érvényességének megállapítására szolgáló, magas és alacsony koncentrációjú BKV szárított kalibrátorokat tartalmazó egyszer használatos készletek
900601	NeuMoDx™ BKV External Control Kit A NeuMoDx BKV Quant Assay naponkénti érvényességének megállapítására szolgáló, BKV szárított pozitív kontrollokat és negatív kontrollokat tartalmazó egyszer használatos készletek
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	Szűrővel ellátott Hamilton CO-RE hegyek (300 µl)
235905	Szűrővel ellátott Hamilton CO-RE hegyek (1000 µl)

Szükséges készülékek

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

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip kizárólag a NeuMoDx™ Systems készülékekkel használható *in vitro* diagnosztikai célra.
- A teszt elvégzése előtt olvassa el a kitéhez mellékelt tájékoztatóban szereplő összes utasítást.
- A reagensek és a fogyóeszközök a címkén feltüntetett lejárati időn túl nem használhatók.
- Ha sérült a biztonsági plomba, vagy az átvételkor a csomagoláson sérülések láthatók, ne használja a reagenseket.
- Tilos a fogyóeszközöket vagy a reagenseket felhasználni, ha a védőtasak felbontott állapotban van vagy sérült érkezőkor.
- Ne keverje össze más kereskedelmi forgalomban elérhető készletekből származó amplifikációs reagensekkel.
- Ne használja újra.
- A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips tesztcsíkokat tartsa alumínium csomagolásukban, fénytől és nedvességtől védett helyen.
- Klinikai minták teszteredményeinek generálásához rendelkezni kell érvényes (a NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit [REF 800600] készletből származó magas és alacsony koncentrációjú kalibrátorok feldolgozásával generált) tesztkalibrálással.
- A NeuMoDx™ BKV External Control Kit [REF 900601] készletet 24 óránként fel kell dolgozni, a NeuMoDx™ BKV Quant Assay teszttel történő vizsgálatok alatt mindvégig.
- A minimális mintatérfogot a cső méretétől, a mintatartótól és a mintatérfogat-munkafolyamattól függ, az alábbiak szerint. Az előírt minimumnál kisebb mennyiségek „Quantity Not Sufficient” (Nem elegendő mennyiség) hibát eredményezhetnek.
- Ha a BKV assay-t nem megfelelő hőmérsékleten vagy a megadott tárolási időn túl tárolt mintákkal végzik el, ez érvénytelen vagy hibás eredményekhez vezethet a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip használata esetén.
- Ügyeljen arra, hogy egyik reagensbe és fogyóeszközre se kerüljön mikrobiális vagy dezoxiribonukleáz (Dnáz) szennyeződés. Steril, DNáz-mentes, egyszer használatos transzferpipetták használata ajánlott másodlagos mintacsövek használata esetén. Minden egyes mintához használjon új pipettát.
- A kontamináció elkerülése érdekében amplifikáció után ne manipulálja és ne bontsa fel a NeuMoDx™ Cartridge kazettákat. Semmilyen körülmények között ne vegye ki a NeuMoDx™ Cartridge kazettákat a biológia veszélyt jelentő hulladékok tartályából (NeuMoDx™ 288 Molecular System) vagy a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tárolójából (NeuMoDx™ 96 Molecular System). A NeuMoDx™ Cartridge kazetta úgy lett kialakítva, hogy megakadályozza a kontaminációt.
- Olyan esetekben, amikor a laboratórium nyitott csöves PCR-teszteteket is végez, különös figyelmet kell arra fordítani, hogy a teszthez szükséges NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, a további fogyóeszközök és reagensek, az egyéni védőfelszerelés (pl. kesztyű és laborköpeny), valamint a NeuMoDx™ System ne szennyeződjenek.
- A NeuMoDx™ reagensk és fogyóeszközök kezelésekor tiszta, púdermentes, nitril védőkesztyűt kell használni. Ügyeljen arra, hogy ne érintse meg a NeuMoDx™ Cartridge kazetta felső felületét, a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip vagy a NeuMoDx™ Extraction Plate zárófoliájának felületét vagy a NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 és 5 tartályok felső felületét. A fogyóeszközök és reagensek manipulálása során csak az oldalfelületeket szabad megérinteni.
- Minden reagenshez a www.neumodx.com/client-resources weboldalon biztosítunk (szükség szerint) biztonsági adatlapot (Safety Data Sheet, SDS).
- A szöveg szélén található függőleges sáv az előző használati útmutatóhoz képest mutatja a módosításokat.
- A teszt végrehajtását követően alaposan mosson kezet.
- Tilos szájjal pipettázni. Tilos enni, inni, dohányozni az olyan területeken, ahol mintákat vagy reagenseket kezelnek.
- Mindig kezelje a mintákat úgy, mintha fertőzőképesek lennének, a biztonságos laboratóriumi eljárásoknak megfelelően, például a vér útján terjedő kórokozókra vonatkozó OSHA szabvány⁴ szerint. A fertőző ágenseket tartalmazó vagy feltehetően tartalmazó anyagokkal a 2. biológiai biztonsági szintnek megfelelően⁵ vagy egyéb megfelelő biológiai biztonsági gyakorlat^{6,7} szerint kell eljárni.
- A nem használt reagenseket és a hulladékot az országos, szövetségi, tartományi, állami és helyi jogszabályok szerint kell ártalmatlanítani.
- A NeuMoDx™ BKV Quant Assay eredményeit más klinikai és laboratóriumi eredményekkel együtt kell kiértékelni.
- Mint minden más teszt esetében, a negatív eredmények nem zárják ki a BKV-fertőzést.

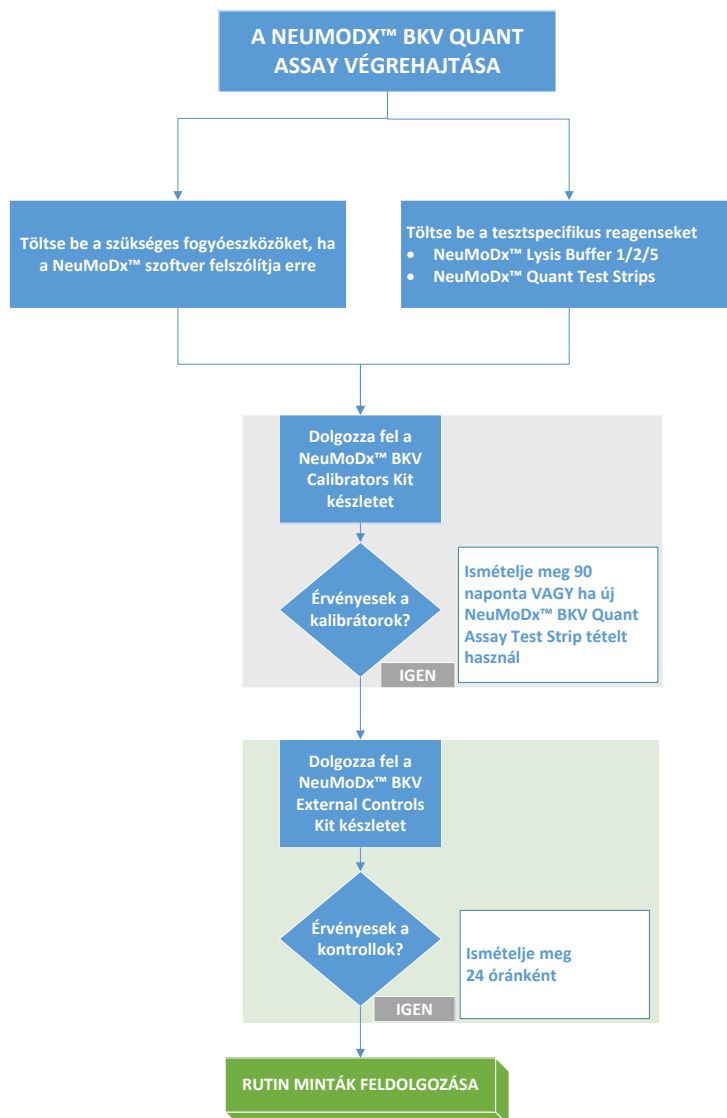
A TERMÉK TÁROLÁSA, KEZELÉSE ÉS STABILITÁSA

- A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips tesztcsíkok elsődleges csomagolásukban, 15–30 °C között tárolva a termék közvetlen címkéjén feltüntetett lejárati ideig stabilak.
- A NeuMoDx™ System készülékbe betöltött NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip 32 napig stabil. A NeuMoDx™ System szoftvere felszólítja a felhasználót, hogy távolítsa el a több mint 32 napja a NeuMoDx™ System készülékben használatban lévő tesztcsíkokat. Ezt követően új NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips tesztcsíkokat kell felbontani (kivenni a csíkokat a tasakból) és betölteni a NeuMoDx System készülékbe. Ne távolítsa el az alumíniumfóliát a csíkról a NeuMoDx System készülékbe történő betöltés során.
- A NeuMoDx™ kalibrátorok és kontrollok nem fertőzőek, de használat után a laboratórium biológiai veszélyt jelentő hulladékainak tartályába kell kidobni azokat, mivel a készülékben történő feldolgozást követően célanyagot fognak tartalmazni, ami nem megfelelő kezelés esetén kontaminációt okozhat.

MINTAGYŰJTÉS, -SZÁLLÍTÁS ÉS -TÁROLÁS

1. Minden mintát potenciális fertőzésforrásként kell kezelni.
2. Az elsődleges csövekben tárolt teljes vér- vagy plazma-/szérummintákat tilos lefagyasztani.
3. Plazmaminták készítéséhez a teljes vért antikoagulánsként EDTA-t tartalmazó steril csövekbe kell venni. A szérummintákat szérumseparáló csövekben kell előkészíteni. A vizeletmintákat steril csövekbe vagy poharakba kell gyűjteni. Kövesse a mintagyűjtő cső gyártójának utasításait.
4. A fent felsorolt eszközökbe gyűjtött teljes vért legfeljebb 24 órán át szabad tárolni és/vagy szállítani 2–8 °C-on a plazma/szérum előkészítése előtt. A minta-előkészítést a gyártó utasításainak megfelelően kell végezni.
5. A friss feldolgozatlan vizeletminták környezeti hőmérsékleten történő tárolását minimálisra kell csökkenteni, mivel az alacsony pH és a magas karbamidtartalom gyorsan denaturálja a DNS-t, különösen 25 °C-os vagy magasabb hőmérsékleten.
6. Az előkészített plazma-/szérumminták és vizeletminták a feldolgozás előtt legfeljebb 24 órán át tárolhatók a NeuMoDx™ System készülékben. Ha ennél hosszabb tárolási időre van szükség, javasolt a mintákat másodlagos alikvotok formájában lehűteni vagy lefagyasztani.
7. Az előkészített plazma-/szérum- és vizeletminták vizsgálat előtt 2–8 °C-on legfeljebb 8 napig, szobahőmérsékleten pedig legfeljebb 24 órán át tárolhatók.
8. Az előkészített minták < -20 °C-on, plazma esetében legfeljebb 8 hétig, szérum esetében pedig legfeljebb 2 hétig tárolhatók feldolgozás előtt. A plazma- és a szérummintákat sem szabad alávetni több mint 2 fagyasztási/kiolvasztási ciklusnak felhasználás előtt:
 - a. Ha a mintákat lefagyasztották, hagyja, hogy szobahőmérsékleten (15–30 °C-on) teljesen kiolvadjanak. Ezt követően keverje meg a mintákat vortex keverővel az egyenletes eloszlás érdekében.
 - b. A lefagyasztott minták kiolvasztása után a tesztet 24 órán belül el kell végezni.
 - c. Az elsődleges gyűjtőcsőben található plazmát/szérumot nem ajánlott lefagyasztani.
9. Feldolgozás után a vizeletminták 2–8 °C-on tárolhatók.
10. Szállítás esetén a mintákat a vonatkozó országos és/vagy nemzetközi szabályozásoknak megfelelően kell becsomagolni és felcímkézni.
11. Lásza el a mintákat egyértelmű címkefelirattal, megjelölve azt, hogy BKV vizsgálatára szolgálnak.
12. Lépjen tovább „A teszt előkészítése” című részhez.

A NeuMoDx™ BKV Quant Assay teljes folyamatának összefoglalását lásd 1. ábra.



1. ábra: A NeuMoDx BKV Quant Assay teszt végrehajtásának munkafolyamata

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

A teszt előkészítése

Plazma-/szérumminták esetében a NeuMoDx BKV Quant Assay közvetlenül az elsődleges vérvételi csövekből vagy másodlagos csövekben lévő mintaalikvotokból futtatható. A feldolgozás két mintatérfogató munkafolyamatban végezhető el: az 550 µl mintatérfogató munkafolyamatban vagy a 100 µl mintatérfogató munkafolyamatban. A vizeletminták futtatásához csak az 550 µl mintatérfogató munkafolyamat használatos.

- Ragassza fel a minta vonalkódcímkéjét a NeuMoDx™ System készülékkel kompatibilis mintacsőre. Az elsődleges vérvételi cső felcímkézhető, és centrifugálást követően közvetlenül behelyezhető egy 32 csöves mintacsőtartóba, a gyártó utasításainak megfelelően.
- Ha a plazma-/szérummintát az elsődleges vérvételi csőben teszteli, helyezze a vonalkódcímkével ellátott csövet egy mintacsőtartóba, ügyelve arra, hogy eltávolítsa a kupakot a NeuMoDx System készülékbe történő behelyezés előtt. A gél/középső réteg **főlötti** minimális térfogatok az alábbiakban vannak megadva. Elérésükhöz a mintákat a cső gyártójának utasításai szerint kell gyűjteni és feldolgozni. A teljesítmény nem garantálható nem megfelelően gyűjtött minták esetén.

Vérvételi cső típusa	Minimálisan szükséges mintatérfogató	
	550 µl-es munkafolyamat	100 µl-es munkafolyamat
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/szérum – 4,0 ml	1050 µl	650 µl
K ₂ EDTA/szérum – 6,0 ml	1250 µl	850 µl
K ₂ EDTA/szérum – 10,0 ml	1600 µl	1200 µl

- Ha vizeletminták vagy plazma-/szérumminták esetében másodlagos csövet használ, adagoljon egy mintaalikvotot a NeuMoDx System készülékkel kompatibilis vonalkódos mintacsőbe, az alábbiakban megadott térfogatok szerint:

Mintacsőtartó	Csőméret	Minimálisan szükséges mintatérfogató	
		550 µl-es munkafolyamat	100 µl-es munkafolyamat (csak plazma/szérum)
32 csöves mintacsőtartó	11–14 mm átmérőjű, 60–120 mm magas	700 µl	350 µl
24 csöves mintacsőtartó	14,5–18 mm átmérőjű, 60–120 mm magas	1100 µl	750 µl
Kis térfogatú mintacsőtartó	1,5 ml-es, kúpos aljú mikrocentrifuga-cső	650 µl	250 µl

A NeuMoDx System használata

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx™ 288, illetve 96 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600108 és 40600317)

- Töltse be a tesztkéretet a NeuMoDx System készülékbe a kívánt mintatípusnak és csőtípusnak megfelelően:
 - az 550 µl-es mintatérfogató vizsgálatához a következő mintatípusok közül lehet választani: „Plasma” (Plazma), „Serum” (Szérum) vagy „Urine” (Vizelet)
 - a 100 µl-es mintatérfogató vizsgálatához a következő mintatípusok közül lehet választani: „Plasma2” (Plazma2) vagy „Serum2” (Szérum2)
 - Ha a tesztkéretben nincs megadva, a Plasma (Plazma) mintatípusa alapértelmezetten a Secondary Tube (Másodlagos cső).
- Vágja fel a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip alumíniumtasakjait az oldalsó, bemetszésekkel jelölt ponton.
- A csíkokat közvetlenül használat előtt vegye ki a tasakból.
- A tasak használata előtt mindig győződjön meg arról, hogy szorosan le van zárva és a szárítótasak még benne van. Kizárólag sértetlen csomagokat használjon fel.
- Dobja ki az alumíniumtasakokat és tartalmukat, ha a szárítótasak színe narancssárgáról zöldre vált.
- Töltsön fel egy vagy több NeuMoDx™ System Test Strip Carrier tartót NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip tesztcsík(ok)kal, és az érintőképernyő segítségével töltsön be a Test Strip Carrier tartó(ka)t a NeuMoDx™ System készülékbe.

7. Amikor a NeuMoDx™ System szoftvere felszólítja erre, helyezze be a szükséges fogyóeszközöket a NeuMoDx™ System fogyóeszköztartójába, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartó(ka)t a NeuMoDx™ System készülékbe.
8. Ha a NeuMoDx™ System szoftvere felszólítja erre, szükség szerint cserélje ki a NeuMoDx™ Wash Reagent, illetve a NeuMoDx™ Release Reagent reagenseket, ürítse ki a feltöltési hulladékot, a biológia veszélyt jelentő hulladékok tartályát (csak a NeuMoDx 288 Molecular System esetében), a hegyek hulladéktárolóját (csak a NeuMoDx 96 Molecular System esetében) vagy a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tárolóját (csak a NeuMoDx 96 Molecular System esetében).
9. Ha a NeuMoDx™ System szoftvere felszólítja erre, dolgozza fel szükség szerint a kalibrátorokat (REF 800600) és/vagy külső kontrollokat (REF 900601). A kalibrátorokkal és kontrollokkal kapcsolatos további információk „Az eredmények feldolgozása” című részben találhatóak.
10. Helyezze be a minta-/kalibrátor-/kontrollcsöve(ke)t egy standard 32 csöves tartóba. Ügyeljen arra, hogy minden mintacsőről eltávolítsa a kupakot.
11. Helyezze be a mintacsőtartót az automatikus betöltőpolc egy nyitott pozíciójába, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartót a NeuMoDx™ System készülékbe. Ez elindítja az azonosított teszt(ek)re vonatkozó betöltött minták feldolgozását, amennyiben a rendszerben jelen van érvényes tesztkérés.

KORLÁTOZÁSOK

- A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip csak a NeuMoDx™ Systems készülékeken használható.
- A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip teljesítményét antikoagulánsként EDTA-t tartalmazó csövekbe gyűjtött teljes vérből készített plazma- és szérumminták, valamint vizeletminták esetében határozták meg. A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip más klinikai mintatípusokkal való használatát nem vizsgálták, és a teszt teljesítményjellemzői nem ismertek más mintatípusokra vonatkozóan.
- A 100 µl mintatérfigatú munkafolyamat kapcsán a NeuMoDx BKV Quant Assay detektálási határának és az alsó mennyiségi meghatározási határértékének az enyhe emelkedése volt megfigyelhető.
- A NeuMoDx BKV Quant Assay tesztet tilos használni heparinnal kezelt betegektől származó mintákkal.
- Mivel a BKV detektálása függ a mintában jelen lévő mikroorganizmusok számától, az eredmények megbízhatósága a megfelelő mintagyűjtéstől, -kezeléstől és -tárolástól függ.
- A kalibrátorokat és a külső kontrollokat a terméktájékoztatókban ajánlottak szerint kell feldolgozni, valamint ha a NeuMoDx™ System szoftvere felszólít erre a rutin klinikai minták feldolgozása előtt.
- A minta nem megfelelő gyűjtése, kezelése és tárolása, a technikai hibák és a mintacsövek felcserélése hibás eredményekhez vezethet. Ezenkívül álnegatív eredményeket okozhat, ha a vírusrészecskék a NeuMoDx™ BKV Quant Assay detektálási határértéke alatti számban vannak jelen a mintában.
- A NeuMoDx™ System készüléket kizárólag a NeuMoDx™ System használatával kapcsolatos képzésben részesült személyek működtethetik.
- Ha sem a BKV-célszekvencia, sem pedig az SPC1-célszekvencia nem amplifikálódik, a rendszer érvénytelen eredményt ad (Indeterminate [Nem eldönthető], No Result [Nincs eredmény] vagy Unresolved [Megoldatlan]), és a tesztet meg kell ismételni.
- Ha a NeuMoDx™ BKV Quant Assay eredménye Positive (Pozitív), de a mennyiségi meghatározási érték a mennyiségi meghatározás határain kívül esik, a NeuMoDx™ System jelenteni fogja, hogy a detektált BKV mennyisége a mennyiségi meghatározás alsó határa (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) alatti vagy a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) feletti értékű volt.
- Ha a detektált BKV mennyisége a mennyiségi meghatározás alsó határa (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) alatti értékű volt, a NeuMoDx™ BKV Quant Assay megismételhető (szükség esetén) a minta egy másik alikvotjával.
- Ha a detektált BKV mennyisége a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) fölötti értékű volt, a NeuMoDx™ BKV Quant Assay megismételhető az eredeti minta egy hígított alikvotjával. BKV negatív plazmában vagy Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) oldószerben végzett 1:1000 arányú hígítás javasolt. Az eredeti minta koncentrációja az alábbiak szerint számítható ki:

$$\text{Eredeti mintakonzentráció} = \log_{10}(\text{hígítási tényező}) + \text{a hígított minta jelentett koncentrációja}.$$

- A PCR-gátlók esetleges jelenléte a plazmában/szérumban vagy a vizeletben a készülék mennyiségi meghatározási hibájához vezethet. A tesztet javasolt megismételni Basematrix oldószerben 1:10 vagy 1:100 arányban hígított egyazon mintával.
- A pozitív eredmény nem feltétlenül jelenti életképes mikroorganizmusok jelenlétét. A pozitív eredmény azonban valószínűsíti a BKV DNS jelenlétét.
- A NeuMoDx™ BKV Quant Assay által megcélzott konzervált régiókban létrejött delécio vagy mutációk befolyásolhatják a detektálást, vagy hibás eredményeket adhatnak a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip használatakor.
- A NeuMoDx™ BKV Quant Assay eredményeit a klinikai megfigyelések és az orvos számára rendelkezésre álló egyéb információk kiegészítéseként kell felhasználni. A teszt nem alkalmas fertőzés diagnosztizálására.
- A szennyeződés elkerülése érdekében javasolt a helyes laboratóriumi gyakorlat alkalmazása, ilyen például az egyes betegminták kezelése közötti védőkesztyűcseré.

AZ EREDMÉNYEK FELDOLGOZÁSA

A rendelkezésre álló eredmények megtekinthetők a NeuMoDx™ System érintőképernyőjén, a Results (Eredmények) ablak „Results” (Eredmények) lapján, ahonnan ki is nyomtathatók.

A NeuMoDx™ System szoftvere a döntési algoritmus és a NeuMoDx™ BKV assay-definíciós fájl (BKV Assay Definition File, BKV ADF) fájlban megadott eredményfeldolgozási paraméterek segítségével automatikusan generálja a NeuMoDx™ BKV Quant Assay eredményeit. A célszekvencia és a mintafeldolgozási kontroll amplifikációs státusza alapján a NeuMoDx™ BKV Quant Assay eredménye lehet Negative (Negatív), Positive (Pozitív) a BKV-koncentráció megadásával, Positive above ULoQ (Felső mennyiségi meghatározási határ feletti pozitív), Positive below LLoQ (Alsó mennyiségi meghatározási határ alatti negatív), Indeterminate (IND) (Nem eldönthető), Unresolved (UNR) (Megoldatlan) vagy No Result (NR) (Nincs eredmény). Az eredményeket az alábbiakban (1. táblázat) összefoglalt döntési algoritmus alapján jelentik.

1. táblázat: A NeuMoDx BKV Quant Assay döntési algoritmusának összefoglalása

Eredmény	BKV	Mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1)	Eredmények értelmezése
Positive (Pozitív) a koncentráció megadásával	Amplified (Amplifikált) $1,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \log_{10} \text{ NE/ml}$ (550 µl-es munkafolyamat)* $2,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \log_{10} \text{ NE/ml}$ (100 µl-es munkafolyamat)*	Amplified (Amplifikált) vagy Not Amplified (Nem amplifikált)	A mennyiségi meghatározási tartományon belül detektált BKV DNS
Positive (Pozitív), a mennyiségi meghatározás felső határa [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] fölött	Amplified (Amplifikált) [BKV] > 8,0 log ₁₀ NE/ml	Amplified (Amplifikált) vagy Not Amplified (Nem amplifikált)	A mennyiségi meghatározási tartomány felett detektált BKV DNS
Positive (Pozitív), a mennyiségi meghatározás alsó határa [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] alatt	Amplified (Amplifikált) [BKV] < 1,3 log ₁₀ NE/ml (550 µl-es munkafolyamat)* [BKV] < 2,3 log ₁₀ NE/ml (100 µl-es munkafolyamat)*	Amplified (Amplifikált) vagy Not Amplified (Nem amplifikált)	A mennyiségi meghatározási tartományon alul detektált BKV DNS
Negative (Negatív)	Not Amplified (Nem amplifikált)	Amplified (Amplifikált)	BKV DNS nem mutatható ki
Indeterminate (Nem eldönthető)	Not Amplified (Nem amplifikált), System Error Detected (Rendszerhiba detektálva), Sample Processing Completed (Minta feldolgozása befejezve)		Az összes célszekvencia-eredmény érvénytelen volt; a mintát újra kell tesztelni†
No Result (Nincs eredmény)	Not Amplified (Nem amplifikált), System Error Detected (Rendszerhiba detektálva), Sample Processing Aborted (Minta feldolgozása megszakadt)		A minta feldolgozása megszakadt; a mintát újra kell tesztelni†
Unresolved (Nem meghatározható)	Not Amplified (Nem amplifikált), No System Error Detected (Nincs detektált rendszerhiba)		Az összes célszekvencia-eredmény érvénytelen volt; a mintát újra kell tesztelni†

*Az 550 µl-es munkafolyamat plazma-/szérum- és vizeletminták esetében használható. A 100 µl-es munkafolyamat csak a plazma-/szérumminták esetében használható.

†A NeuMoDx System automatikus Rerun (Újrafuttatás) / Repeat (Ismétlés) funkcióval rendelkezik, amelyet a végfelhasználó kiválaszthat annak biztosítása érdekében, hogy az IND (Nem eldönthető) / NR (Nincs eredmény) / UNR (Megoldatlan) eredmény esetén a rendszer automatikusan újrafeldolgozza a mintát, ezzel minimálisan csökkentve a leletkiadás késleltetését.

Testtzel kapcsolatos számítások

- A NeuMoDx™ BKV Quant Assay mennyiségi meghatározási tartományán belül eső minták esetében a BKV DNS koncentrációját a kalibrációs koefficienssel és a minta térfogatával együtt használt, tárolt standard görbe segítségével határozzák meg.
 - A standard görbe érvényességének megállapításához használt kalibrációs koefficiens a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip egy bizonyos tételére vonatkozóan, egy bizonyos NeuMoDx™ System készüléken feldolgozott NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit eredményei alapján számolható ki.
 - A kalibrációs koefficiens a BKV DNS-koncentrációjának végső meghatározásakor használatos.
 - A NeuMoDx Software a minta bemeneti térfogatát veszi figyelembe a BKV DNS-koncentrációjának a minta 1 ml-ében történő meghatározásához.
- A NeuMoDx™ BKV Quant Assay eredmények log₁₀ NE/ml mértékegységben jelennek meg a jelentésben.
- Az ismeretlen minták mennyiségi meghatározási eredményei a WHO 1. nemzetközi BK-vírus standardjára vezethetők vissza (14/212)⁹.

Tesztkalibrálás

A BKV DNS mintákban történő mennyiségi meghatározásához standard görbén alapuló érvényes kalibrálásra van szükség. Az érvényes eredmények generálásához tesztkalibrálást kell végezni a NeuMoDx™ Molecular, Inc. által biztosított kalibrátorokkal.

Kalibrátorok

1. A kitben kapható NeuMoDx™ BKV Calibrators (REF 800600) kalibrátorok szárított, szintetikus BKV DNS pelletből állnak.
2. A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips tesztcsíkok minden új tételével fel kell dolgozni egy BKV kalibrátorkészletet, ha új BKV assay-definíciók fájlt töltenek fel a NeuMoDx™ System készülékbe, ha az aktuális kalibrátorkészlet meghaladta a validitási időszakot (ami jelenleg 90 napra van beállítva), vagy ha a NeuMoDx™ System szoftverét módosítják.
3. A NeuMoDx™ System szoftvere értesíti a felhasználót, amikor szükség van a kalibrátorok feldolgozására. Új tesztcsíktétel addig nem használható vizsgálathoz, amíg a kalibrátorokat sikeresen fel nem dolgozták.
4. Ha új BKV kalibrátorkészletet kell feldolgozni, olvassa el a NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit terméktájékoztatójában található összes utasítást, mielőtt elvégezné a tesztet.
5. A kalibráció érvényessége a következőképpen állapítható meg:
 - a) Két kalibrátorból – magas és alacsony koncentrációjú – álló készletet kell feldolgozni az érvényesség megállapításához.
 - b) Érvényes eredmények generálásához a 3 párhuzamos közül legalább 2-nek az előre meghatározott paramétertartományba eső eredményeket kell adnia. Az alacsony koncentrációjú kalibrátor névleges célértéke $3 \log_{10}$ NE/ml, a magas koncentrációjú kalibrátor névleges célértéke pedig $5 \log_{10}$ NE/ml.
 - c) A készülék kiszámítja a kalibrációs koefficienset a tesztcsíktételek közötti várható eltérések kompenzálása érdekében. A kalibrációs koefficienset a végső BKV-koncentráció meghatározásához használják.
6. Ha a kalibrátorok egyikénél vagy mindkettőjénél sikertelen az érvényességi vizsgálat, egy új üveggel ismételje meg a sikertelen kalibrátor(ok) feldolgozását. Ha egy kalibrátor érvénytelen, elég lehet csak a sikertelen kalibrátor feldolgozását megismételni, mivel a rendszer nem kéri a felhasználót mindkét kalibrátor újrafuttatására.

Minőség-ellenőrzés

A helyi szabályozások jellemzően megadják, hogy a laboratórium a felelős a teljes analitikai folyamat pontosságának és precizitásának monitorozását végző kontroll-eljárásokért, és meg kell határozni a tesztkontrollanyagok számát, típusát és alkalmazásuk gyakoriságát a módosítatlan, jóváhagyott tesztrendszerre vonatkozó ellenőrzött teljesítményjellemzők segítségével.

Külső kontrollok

1. A BKV External Controls külső kontrollokat a NeuMoDx Molecular, Inc. a BKV External Control Kit (REF 900601) készlet formájában biztosítja. A pozitív kontrollok szárított szintetikus BKV DNS pelletet tartalmaznak.
2. Pozitív és negatív külső kontrollokat 24 óránként fel kell dolgozni. Ha nem áll rendelkezésre érvényes külsőkontroll-készlet, a NeuMoDx™ System szoftvere felszólítja a felhasználót, hogy dolgozzon fel kontrollokat, mielőtt a mintaeredményeket jelenteni lehetne.
3. Ha külső kontrollokra van szükség, a teszt elvégzése előtt készítse elő a pozitív és negatív kontrollokat a NeuMoDx BKV External Control Kit terméktájékoztatójában leírtak szerint.
4. Az érintőképernyő és az automatikus betöltőpolcra helyezett mintacsőtartó segítségével töltsse be a pozitív és negatív kontroll üvegeket a NeuMoDx™ System készülékbe. A NeuMoDx™ System felismeri a vonalkódot és elkezd a mintacsövek feldolgozását, ha a vizsgálathoz szükséges megfelelő reagensek és fogyóeszközök rendelkezésre állnak.
5. A külső kontrollok érvényességét a NeuMoDx™ System vizsgálja meg a várható eredmények alapján. A pozitív kontroll BKV-pozitív eredményt, a negatív kontroll pedig BKV-negatív eredményt kell, hogy adjon.
6. A külső kontrollokkal kapcsolatos ellentmondó eredményeket a következőképpen kell kezelni:
 - a) Negatív kontrollminta esetén jelentett pozitív teszteredmény mintakontaminációs problémákra utal.
 - b) Pozitív kontrollminta esetén jelentett negatív teszteredmény reagenssel vagy készülékkel kapcsolatos problémára utalhat.
 - c) A fenti esetek bármelyikében, illetve Indeterminate (IND) (Nem eldönthető) eredmény vagy No Result (NR) (Nincs eredmény) esetén ismételje meg a NeuMoDx™ BKV külső kontrollok tesztjét az összes, olyan kontroll új üvegével, amelynél az érvényességi teszt sikertelen volt.
 - d) Ha egy pozitív NeuMoDx™ BKV külső kontroll továbbra is Negative (Negatív) eredményt ad, forduljon a NeuMoDx™ ügyfélszolgálatához.
 - e) Ha egy negatív NeuMoDx™ BKV External Control továbbra is Positive (Pozitív) eredményt ad, próbáljon meg kiküszöbölni minden potenciális kontaminációs forrást, ideértve az ÖSSZES reagens cseréjét is, mielőtt a NeuMoDx™ ügyfélszolgálatához fordulna.

Mintafeldolgozási (belső) kontrollok

A NeuMoDx™ Extraction Plate extrakciós lemezbe beépítettek egy exogén mintafeldolgozási kontrollt (Sample Process Control, SPC1), amely minden minta esetében átesik a teljes nukleinsav-extrakciós és valós idejű PCR-amplifikációs folyamaton. Az SPC1-specifikus primerek és próbák a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip tesztcsíkok részét képezik, ami lehetővé teszi az SPC1 detektálását a BKV DNS mellett (ha jelen van), multiplex valós idejű PCR útján. Az SPC1 amplifikációja lehetővé teszi a NeuMoDx™ System szoftvere számára a DNS-extrakciós és a PCR-amplifikációs folyamatok hatáosságának monitorozását.

Érvénytelen eredmények

Ha a NeuMoDx™ System készüléken elvégzett NeuMoDx™ BKV Quant Assay vizsgálat nem ad érvényes eredményt, az a jelentésben Indeterminate (IND) (Nem eldönthető), No Result (NR) (Nincs eredmény) vagy Unresolved (UNR) (Megoldatlan) jelöléssel jelenik meg, a bekövetkezett hibától függően.

Az eredmény akkor kap IND (Nem eldönthető) jelölést, ha a mintafeldolgozás során a NeuMoDx™ System hibáját észleli a készülék. IND (Nem eldönthető) eredmény esetén a tesztet ajánlott megismételni.

Ha nem detektálható a BKV DNS vagy az SPC1 érvényes amplifikációja, a rendszer UNR (Megoldatlan) eredményt ad, ami lehetséges reagenshibára utal vagy inhibitorok jelenlétét jelzi. UNR (Megoldatlan) eredmény esetén első lépésként megismételhető a teszt. Ha az ismételt vizsgálat sikertelen, hígított minta használható az esetleges mintagátló hatások csökkentésére.

Ha a NeuMoDx System készüléken elvégzett NeuMoDx BKV Quant Assay vizsgálat nem ad érvényes eredményt és a minta feldolgozása a befejeződése előtt megszakad, a jelentésben ez No Result (NR) (Nincs eredmény) jelöléssel jelenik meg. NR eredmény esetén a tesztet ajánlott megismételni.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Analitikai szenzitivitás – detektálási határ¹²

A NeuMoDx™ BKV Quant Assay analitikai szenzitivitásának jellemzésére a WHO 1. nemzetközi BKV-vírus (BKV) standardja (14/212)⁹ szerint kalibrált EDX BKV verifikációs panel (Exact Diagnostics) hígítási sorozatát vizsgálták BKV-negatív plazma-/szérum- és vizeletmintákon, a NeuMoDx Systems készülékek detektálási határának (Limit of Detection, LoD) meghatározásához. Plazma/szérum (550 µl) és vizelet esetében az LoD definíciója a következő volt: a probit-elemzés segítségével, 95%-os konfidenciaintervallummal (confidence interval, CI), kísérletileg meghatározott koncentráció fölötti legközelebbi célkoncentráció. Plazma/szérum (100 µl) esetén egyetlen, 200 NE/ml-es mintakonzentrációt vizsgáltak meg találati arány elemzéssel és LoD-ként validálták, ha a detektálási arány 95% feletti volt. A vizsgálatot 3 napon keresztül végezték több készüléken, több NeuMoDx™ reagenstétellel. Minden készülékkel naponta 42 párhuzamost dolgoztak fel minden hígítási szinten (pozitív minták) és 8 párhuzamost a negatív minták esetében. A detektálási arányokat a 2. táblázat és a 3. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: A NeuMoDx BKV Quant Assay (550 µl plazma/szérum és vizelet) detektálási határának (Limit of Detection, LoD) meghatározása esetén kapott pozitív detektálási arányok

Célkoncentráció [NE/ml]	Célkoncentráció [log ₁₀ NE/ml]	550 µl-es PLAZMA/SZÉRUM munkafolyamat			VIZELET		
		Az érvényes tesztek száma	Pozitív minták száma	Detektálási arány	Az érvényes tesztek száma	Pozitív minták száma	Detektálási arány
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%
Negatív	0,00	20	0	0%	24	0	0%

3. táblázat: A NeuMoDx BKV Quant Assay (plazma/szérum 100 µl) detektálási határának (Limit of Detection, LoD) meghatározása esetén kapott pozitív detektálási arányok

Célkoncentráció [NE/ml]	Célkoncentráció [log ₁₀ NE/ml]	100 µl-es PLAZMA/SZÉRUM munkafolyamat		
		Az érvényes tesztek száma	Pozitív minták száma	Detektálási arány
200	2,30	89	88	99%

A NeuMoDx™ BKV Quant Assay LoD-értéke plazma/szérum (550 µl-es munkafolyamat) esetén 20 NE/ml (1,3 log₁₀ NE/ml) volt, 11,03 értékű 95%-os konfidenciaintervallummal (confidence interval, CI). A vizeletben az LoD 20,0 NE/ml (1,3 log₁₀ NE/ml) volt 13,09 értékű 95%-os konfidenciaintervallummal (confidence interval, CI). Plazma/szérum (100 µl-es munkafolyamat) esetén az LoD 200 NE/ml (2,3 log₁₀ NE/ml) volt.

Analitikai szenzitivitás – A mennyiségi meghatározás alsó határa (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) és a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

A mennyiségi meghatározás alsó határa (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) és a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) meghatározása: a legalacsonyabb célkoncentráció és a legmagasabb célkoncentráció, amely mellett > 95%-os detektálási arány érhető el és a TAE ≤ 1,0. Az LLoQ és az ULoQ meghatározása érdekében kiszámolták a teljes analitikai hibát (TAE, total analytical error) minden olyan BKV-célkoncentráció esetében, amelynél > 95%-os volt a detektálási arány. A TAE meghatározása:

TAE (total analytical error) = torzítás + 2 × szórás [Westgard-statisztika]

A torzítás az átlagos számított koncentráció és a várható koncentráció közötti különbség abszolút értéke. A szórás a minta mért értékének szórása.

Az LLoQ/UoQ vizsgálatban felhasznált BKV plazma-/szérum- vagy vizeletminták 5 koncentrációjának megfelelő eredmények összefoglalása itt látható: *4. táblázat* és *5. táblázat*. Erre az adatkészletre és a korábban meghatározott LoD-ra alapozva a következő LLoQ- és UoQ-értékeket határoztak meg: 20 NE/ml (1,3 log₁₀ NE/ml), illetve 7,58 × 10⁷ NE/ml (itt 8 log₁₀ NE/ml-re kerekítve) 550 µl-es plazma/szérum munkafolyamat és vizelet esetében, illetve 200 NE/ml (2,3 log₁₀ kópia/ml) 100 µl-es plazma/szérum munkafolyamat esetében.

4. táblázat: A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ULoQ- és LLoQ-értékei, a torzítás és a teljes analitikai hiba (Total Analytical Error, TAE) (550 µl plazma/szérum és vizelet) feltüntetésével

Célkonc. [NE/ml]	Célkonc. [log ₁₀ NE/ml]	550 µl plazma/szérum					Vizelet				
		Átlagos konc. [log ₁₀ NE/ml]	Detektálás (%)	Szórás	Torzítás	TAE	Átlagos konc. [log ₁₀ NE/ml]	Detektálás (%)	Szórás	Torzítás	TAE
7,58 × 10 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

5. táblázat: A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ULoQ- és LLoQ-értékei, a torzítás és a teljes analitikai hiba (Total Analytical Error, TAE) (100 µl plazma/szérum) feltüntetésével

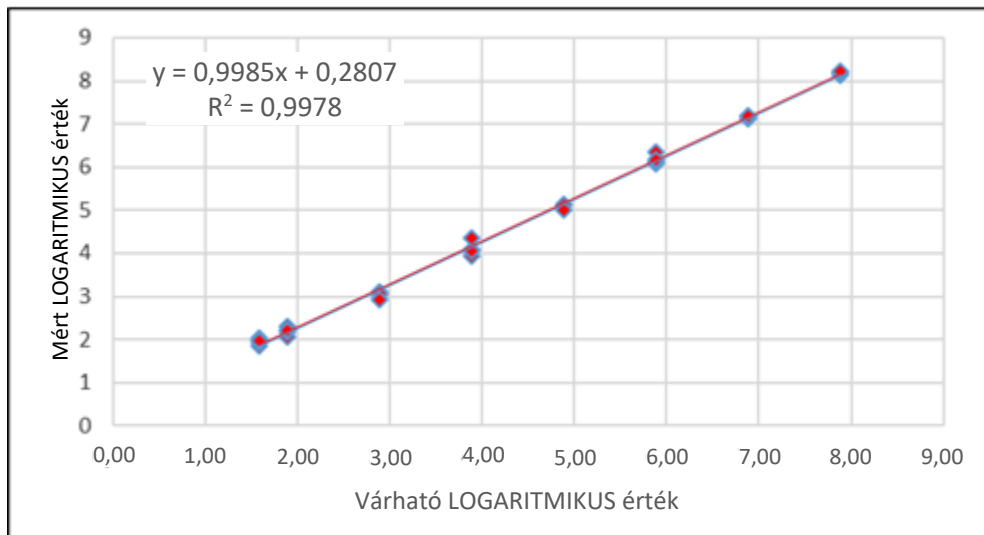
Célkonc. [NE/ml]	Célkonc. [log ₁₀ NE/ml]	100 µl plazma/szérum				
		Átlagos konc. [log ₁₀ NE/ml]	Detektálás (%)	Szórás	Torzítás	TAE
7,58 × 10 ⁷	8	8	100	0,09	0,07	0,25
200	2,30	2,30	99	0,39	0,003	0,78

A vizsgálatok kimenetele alapján a NeuMoDx™ BKV Quant Assay LoD- és LLoQ-értéke egyaránt 20 NE/ml (1,3 log₁₀ NE/ml) volt plazma/szérum és vizelet esetében az 550 µl-es munkafolyamatban, és 200 NE/ml (2,30 log₁₀ NE/ml) plazma/szérum esetében a 100 µl-es munkafolyamat alkalmazása esetén. Az ULoQ minden mintatípus esetén 7,58 × 10⁷ NE/ml (8 log₁₀ NE/ml).

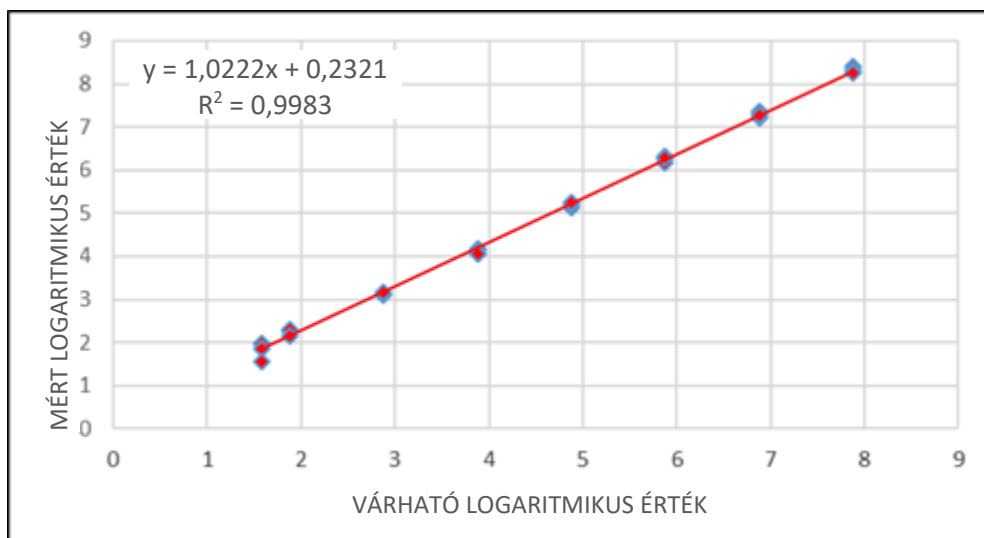
Linearitás¹³

A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip linearitását plazmában/szérumban és vizeletben határozták meg, hígítási sor készítésével, amelyhez a WHO 1. nemzetközi BK vírus (BKV) standardra (14/212)⁹ visszavezethető BKV Synthetic Plasmid (Integrated DNA Technologies) szintetikus plazmidot használtak fel. A BKV szintetikus plazmid, BKV-negatív BaseMatrix 53 oldószerben vagy poolozott BKV-negatív humán vizeletben előkészített 11 hígítási sorát hozták létre a 7,88–1,58 log₁₀ NE/ml koncentrációs tartományban az 550 µl-es plazma/szérum és vizelet munkafolyamat esetében, illetve a 6,88–2,88 log₁₀ NE/ml koncentrációs tartományban a 100 µl-es plazma/szérum munkafolyamat esetében.

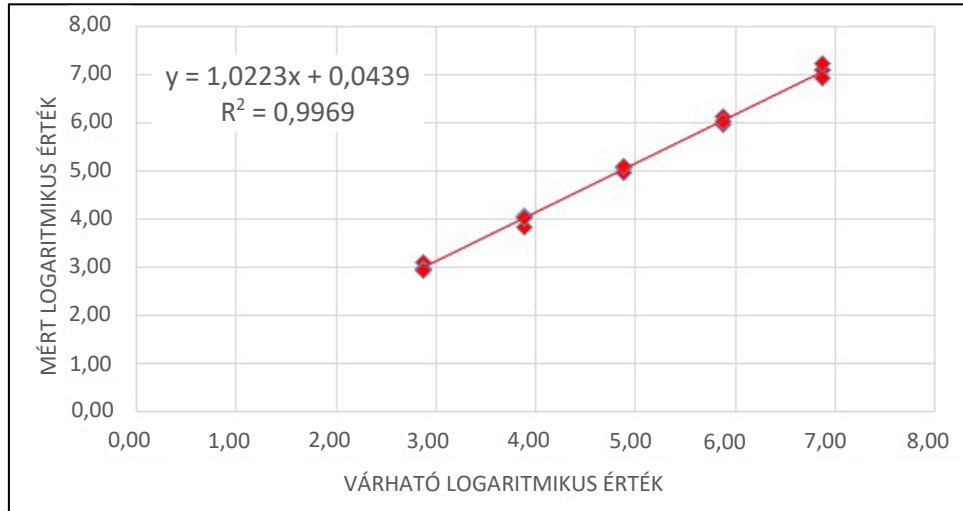
A BKV assay NeuMoDx™ System készülék által jelentett koncentrációi a várható értékekkel összehasonlítva itt láthatók: *2. ábra*, *3. ábra* és *4. ábra*.



2. ábra: A NeuMoDx™ BKV Quant Assay linearitása plazma/szérum (550 µl-es munkafolyamat) esetén



3. ábra: A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip linearitása vizeletminták esetén



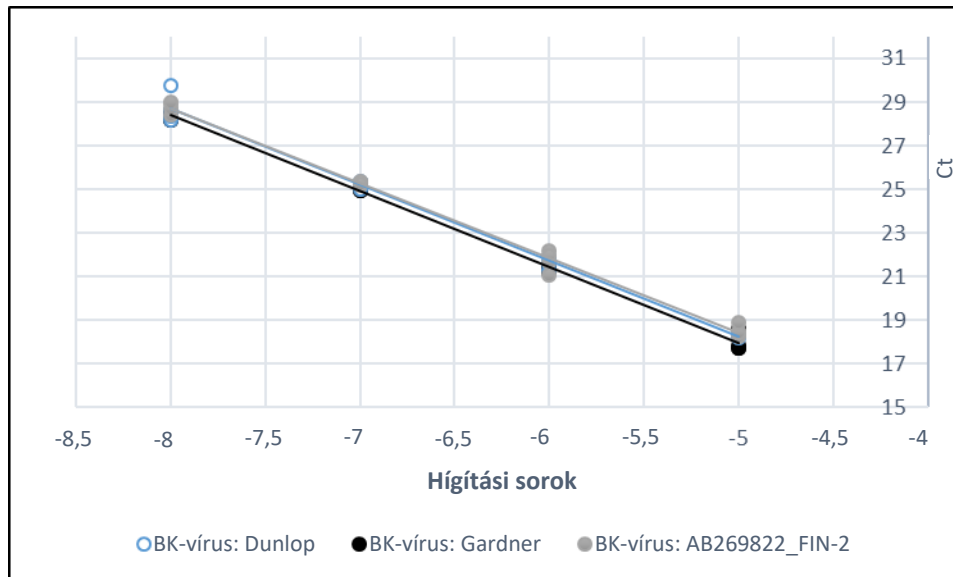
4. ábra: A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip linearitása plazma/szérum (100 µl-es munkafolyamat) esetén

Linearitás a különböző genotípusok esetében¹⁶

A NeuMoDx BKV Quant Assay linearitását három BKV genotípusra (BK-vírus: Dunlop, BK-vírus: Gardner, BK-vírus: AB269822_FIN-2) vonatkozóan, BKV-negatív Base Matrix 53-ban előkészített minden BKV-genotípus négy különböző koncentrációjának vizsgálatával határozták meg. A BK vírus S72390 genotípusa nem mutat polimorfizmust a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip által lefedett célgén régióban. A vizsgálatot a 3 genotípus 6 koncentrációja (10-szeres hígítási sor) 4 párhuzamosának vizsgálatával végezték. Három BKV-genotípusra vonatkozó linearitási adatok itt láthatók: 6. táblázat és 5. ábra.

6. táblázat: A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip linearitása a különböző genotípusok esetében

Genotípus	Linearitási egyenlet y = NeuMoDx BKV Assay Ct x = hígítási sorok	R ²
BK-vírus: Dunlop	y = -3,4808x + 0,8595	0,9926
BK-vírus: Gardner	y = -3,4682x + 0,6395	0,9959
BK-vírus: AB269822_FIN-2	y = -3,432x + 1,2683	0,9947



5. ábra: A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip linearitása a különböző genotípusok esetében

Analitikai specificitás – keresztreaktivitás^{10,11}

Az analitikai specificitást a plazma-/szérum- vagy vizeletmintákban gyakran előforduló 22 mikroorganizmus, valamint a BKV-hez filogenetikailag hasonló fajok keresztreaktivitás tekintetében történő szűrésével igazolták. A mikroorganizmusokat 5–6-os poolokban készítették elő és magas koncentrációkban vizsgálták. A vizsgált mikroorganizmusok itt láthatók: 7. táblázat. Keresztreaktivitás a tesztelt mikroorganizmusok egyikével sem volt megfigyelhető, ami igazolta a NeuMoDx™ BKV Quant Assay 100%-os analitikai specificitását.

7. táblázat: Az analitikai specificitás igazolásához használt kórokozók

Nem célmikroorganizmusok					
HTLV-1/2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Hepatitis B vírus	Adenovírus 5-ös típus	Epstein–Barr-vírus	Varicella zoster vírus	Hepatitis C vírus
Herpes simplex vírus 1-es típusa	Herpes simplex vírus 2-es típusa	Humán herpes vírus 6-os típusa	Humán herpes vírus 7-es típusa	Humán herpes vírus 8-as típusa	Humán immundeficiencia vírus 1
Humán immundeficiencia vírus 2	JC-vírus	SV40	<i>Cytomegalovírus</i>		

Analitikai specificitás – zavaró anyagok, kommenzális mikroorganizmusok^{10,11}

A NeuMoDx™ BKV Quant Assay tesztet interferencia tekintetében nem célmikroorganizmusok jelenlétében, a keresztreaktivitás-vizsgálathoz előkészített, a fenti 7. táblázatban felsorolt azonos mikroorganizmus-poolok felhasználásával értékelték. BKV-negatív plazmát 5–6-os csoportokba poolozott mikroorganizmusokkal, valamint 4 log₁₀ NE/ml-es koncentrációban BKV-célszekenciával preparáltak. A kommenzális mikroorganizmusok jelenlétében nem volt megfigyelhető jelentős interferencia, amint azt a zavaró ágens nem tartalmazó kontrollminták mennyiségi meghatározási eredményeinek minimális eltérése is jelzi.

Analitikai specificitás – zavaró anyagok, endogén és exogén anyagok^{10,11}

A NeuMoDx™ BKV Quant Assay tesztet klinikai BKV plazma-/szérum- vagy vizeletmintákban előforduló típusos exogén és endogén zavaró anyagok jelenlétében értékelték. Ide sorolhatók a vér- vagy vizelet-összetevők rendellenesen magas szintjei, valamint a gyakori vírusellenes gyógyszerek is, amelyek csoportosítása itt látható: 8. táblázat. Az egyes anyagokat BKV-negatív BaseMatrix 53-hoz vagy 3 log₁₀ NE/ml BKV-vel preparált humán vizelethez adták hozzá, és a mintákat megvizsgálták interferencia tekintetében. A vizsgált anyagok átlagos koncentrációját és a torzítást a 9. táblázat tartalmazza, a BKV azonos koncentrációjával preparált kontrollmintákkal összehasonlítva. A NeuMoDx™ BKV Quant Assay specificitását egyik exogén vagy endogén anyag sem befolyásolta.

8. táblázat: Interferenciavizsgálat – exogén ágensek (gyógyszerek osztályozása)

Pool	Gyógyszernév	Besorolás
1. pool	Valganciklovir	VÍRUSELLENES SZER
	Prednizon	IMMUNSZUPPRESSZÍV SZER
	Cidofovir	VÍRUSELLENES SZER
	Cefotaxim	ANTIBIOTIKUM
	Mikofenolát-mofetil	IMMUNSZUPPRESSZÍV SZER
2. pool	Vankomicin	ANTIBIOTIKUM
	Takrolimusz	IMMUNSZUPPRESSZÍV SZER
	Famotidin	HISZTAMINANTAGONISTA
	Valaciclovir	VÍRUSELLENES SZER
	Leflunomid	IMMUNSZUPPRESSZÍV SZER

9. táblázat: Interferenciavizsgálat – exogén és endogén ágensek

Endogén (plazma/szérum)	Átlagos konc.	Torzítás
	log ₁₀ NE/ml	log ₁₀ NE/ml
Trigliceridek (500 mg/dl)	3,09	0,16
Konjugált bilirubin (0,25 g/l)	3,09	0,16
Nem konjugált bilirubin (0,25 g/l)	3,31	-0,06
Albumin (58,7 g/l)	3,12	0,13
Hemoglobin (2,9 g/l)	3,02	0,23
Endogén (vizelet)	Átlagos konc.	Torzítás
	log ₁₀ NE/ml	log ₁₀ NE/ml
Urobilirubin (> 2 mg/dl)	3,74	-0,09
Glükóz (1000 mg/dl)	4,00	0,04
Vizelet, pH 4	3,75	0,29
Vizelet, pH 10	3,77	0,27
Leukocyták (100 000 sejt/ml)	3,68	-0,06
Vér, 7%	3,42	-0,32
Fehérje (albumin > 100 mg/dl)	3,96	0,08
Hintőpor	3,92	0,12
Exogén (gyógyszerek)	Átlagos konc.	Torzítás
	log ₁₀ NE/ml	log ₁₀ NE/ml
1. pool: valganciklovir, prednizon, cidofovir, cefotaxim, mikofenolát-mofetil	4,04	-0,06
2. pool: vankomicin, takrolimusz, famotidin, valaciclovir, leflunomid	4,07	-0,09

Megismételhetőség és laboratóriumon belüli precizitás¹⁴

A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip precizitásának meghatározásához BKV plazmával preparált BKV-minták 5 tagú panelének 2 párhuzamosát vizsgálták naponta kétszer, 20 napon át egyetlen NeuMoDx™ 96 System készüléken. Meghatározták a futtatáson belüli és napon belüli precizitást, és azt találták, hogy az általános szórás $\leq 0,30 \log_{10}$ NE/ml. Kitűnő precizitást igazoltak az összes nap és futtatás tekintetében, lásd: 10. táblázat. A kezelők közötti precizitást nem vizsgálták, mivel a kezelő nem játszik jelentős szerepet a minták feldolgozásában a NeuMoDx™ System használata esetén.

10. táblázat: Laboratóriumon belüli precizitás – NeuMoDx BKV Quant Assay NeuMoDx Systems készülékeken

Minta	Napon belüli szórás (\log_{10} NE/ml)	Napok közötti szórás (\log_{10} NE/ml)	Futtatáson belüli szórás (\log_{10} NE/ml)	Futtatások közötti szórás (\log_{10} NE/ml)	Laboratóriumon belüli szórás (\log_{10} NE/ml)
Plazma-/szérumminta (550 µl bevétel)					
RISppHIGH (RISp plazma magas)	0,10	0,08	0,10	0,01	0,13
RISppMIDDLE (RISp plazma közepes)	0,14	0,10	0,11	0,06	0,17
RISppMLOW (RISp plazma közepesen alacsony)	0,22	0,12	0,21	0,02	0,25
RISppLOW (RISp plazma alacsony)	0,21	0,03	0,18	0,10	0,21
RISppNEG (RISp plazma negatív)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Vizeletminta					
RISpuHIGH (RISp vizelet magas)	0,16	0,10	0,11	0,12	0,20
RISpuMIDDLE (RISp vizelet közepes)	0,21	0,09	0,16	0,13	0,23
RISpuMLOW (RISp vizelet közepesen alacsony)	0,14	0,12	0,13	0,02	0,18
RISpuLOW (RISp vizelet alacsony)	0,29	0,05	0,25	0,13	0,30
RISpuNEG (RISp vizelet negatív)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tételek közötti reprodukálhatóság¹⁴

A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip tételek közötti reprodukálhatóságát három különböző NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips tétel használatával igazolták. BKV plazmával preparált 5 tagú BKV panelt használtak a teljesítmény vizsgálatához egyetlen NeuMoDx™ 96 Molecular System készüléken, 3 külön futtatásban. A tétel belüli és a tételek közötti eltérések elemzésének eredményeit a tételek közötti abszolút mennyiségi meghatározási torzításként fejezték ki, lásd: 11. táblázat. A maximális általános torzítás $0,27 \log_{10}$ NE/ml volt. Egymással egyenértékű teljesítményt igazoltak a különböző tételek esetében, mivel az összes paneltag mennyiségi meghatározási eredményei a megadott toleranciahatárokon belül estek.

11. táblázat: Tételek közötti reprodukálhatóság – NeuMoDx BKV Quant Assay

Minta	Az 1. tétel és a 2. tétel közötti abszolút torzítás (log ₁₀ NE/ml)	Az 1. tétel és a 3. tétel közötti abszolút torzítás (log ₁₀ NE/ml)	A 2. tétel és a 3. tétel közötti abszolút torzítás (log ₁₀ NE/ml)
Plazma-/szérumminta (550 µl)			
7 log ₁₀ NE/ml	0,05	0,10	0,05
4 log ₁₀ NE/ml	0,02	0,03	0,05
3 log ₁₀ NE/ml	0,20	0,05	0,15
2 log ₁₀ NE/ml	0,02	0,24	0,26
0 log ₁₀ NE/ml	0,00	0,00	0,00
Vizeletminta (550 µl)			
7 log ₁₀ NE/ml	0,09	0,27	0,19
4 log ₁₀ NE/ml	0,25	0,06	0,19
3 log ₁₀ NE/ml	0,06	0,08	0,14
2 log ₁₀ NE/ml	0,03	0,11	0,14
0 log ₁₀ NE/ml	0,00	0,00	0,00

Készülékek közötti reprodukálhatóság¹⁴

A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip készülékek közötti reprodukálhatóságát három különböző készülék (két NeuMoDx™ 288 Molecular System és egy NeuMoDx™ 96 Molecular System) használatával határozták meg. BKV plazmával preparált 5 tagú BKV panelt használtak a teljesítmény vizsgálatához. A vizsgálatot párhuzamosan végezték a rendszereken 5 napig. Meghatározták a napok közötti és a rendszerek közötti eltérést, és azt találták, hogy az általános szórás ≤ 0,30 log₁₀ NE/ml. Egymással egyenértékű teljesítményt igazoltak a különböző készülékek esetében, mivel az összes paneltag mennyiségi meghatározásával kapcsolatos szórás a megadott toleranciahatárokon belül esett (12. táblázat).

12. táblázat: Készülékek közötti reprodukálhatóság – NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

Minta	A megismételhetőség szórása (log ₁₀ NE/ml)	Napok közötti szórás (log ₁₀ NE/ml)	Készüléken belüli szórás (log ₁₀ NE/ml)	Készülékek közötti szórás (log ₁₀ NE/ml)	A reprodukálhatóság szórása (log ₁₀ NE/ml)
Plazma-/szérumminta (550 µl bevétel)					
RISppHIGH (RISp plazma magas)	0,10	0,05	0,11	0,06	0,12
RISppMIDDLE (RISp plazma közepes)	0,13	0,05	0,13	0,04	0,13
RISppMLOW (RISp plazma közepesen alacsony)	0,10	0,06	0,12	0,04	0,12
RISppLOW (RISp plazma alacsony)	0,12	0,05	0,13	0,04	0,13
RISppNEG (RISp plazma negatív)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Vizeletminta					
RISpuHIGH (RISp vizelet magas)	0,11	0,05	0,12	0,06	0,14
RISpuMIDDLE (RISp vizelet közepes)	0,10	0,01	0,10	0,05	0,11
RISpuMLOW (RISp vizelet közepesen alacsony)	0,09	0,04	0,10	0,07	0,12
RISpuLOW (RISp vizelet alacsony)	0,15	0,02	0,15	0,05	0,16
RISpuNEG (RISp vizelet negatív)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

HIVATKOZÁSOK

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.

VÉDJEGYEK















A NeuMoDx™ a NeuMoDx Molecular, Inc. védjegye.

A TaqMan® a Roche Molecular Systems, Inc. bejegyzett védjegye.

A STAT-NAT® a SENTINEL CH. S.p.A. bejegyzett védjegye.

A dokumentumban előforduló minden más terméknév, védjegy vagy bejegyzett védjegy a megfelelő tulajdonos tulajdonát képezi.

SZIMBÓLUMOK

SZIMBÓLUM	JELENTÉS
	Kizárólag orvosi rendelvényre
	Gyártó
	A forgalmazó adatai
	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Katalógusszám
	Sarzsorszám
	Lásd a használati útmutatót
	Figyelem, olvassa el a mellékelt dokumentumokat!
	Hőmérsékleti korlátozás
	Száras helyen tárolandó
	Ne használja újra
	Ne tegye ki fény hatásának
	<n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz
	Lejárat dátum



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

Vigilanciajelentés: www.neumodx.com/contact-us

Szabadalom: www.neumodx.com/patents