



201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

FORSIGTIG: Kun til eksport fra USA



Til *in vitro*-diagnostisk brug med NeuMoDx™ 288 og NeuMoDx™ 96 Molecular Systems



Denne indlægsseddel skal læses omhyggeligt, inden produktet anvendes. Instruktionerne i indlægssedlen skal følges. Analyseresultaternes pålidelighed kan ikke garanteres, hvis der afviges fra instruktionerne i denne indlægsseddel. Der står flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx™ 288 Molecular System; P/N 40600108. Der står flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx™ 96 Molecular System; P/N 40600317.



TILSIGTET ANVENDELSE

NeuMoDx™ BKV Quant Assay er en automatiseret *in vitro*-nukleinsyreamplifikationstest til identifikation og kvantificering af BK-virus (BKV)-DNA i prøver ekstraheret fra human plasma/serum og urin. NeuMoDx™ BKV Assay er implementeret i NeuMoDx™ 288 Molecular System og NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx™ System(s)) og indeholder automatiseret DNA-ekstraktion for at isolere målnukleinsyren fra prøven og realtids-polymerasekædereaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) til målsøgning af sekvenser i BKV-genomet.

NeuMoDx BKV Quant Assay er beregnet som hjælp til diagnosticering og overvågning af BK-virusinfektion sammen med andre kliniske fund og laboratoriefund.

OVERSIGT OG FORKLARING

Humant fuldblod opsamlet i sterile blodprøvetagningsrør, der indeholder EDTA som antikoagulationsmiddel, eller i rør til klargøring af plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT), kan bruges til klargøring af plasma, mens serum skal opsamles i serumopsamlingsrør eller -separatorrør (Serum Separation Tubes, SST). Test af urinprøver kræver en urinprøve, der er opsamlet i et standardbæger til urinopsamling uden konserveringsmidler eller tilsætningsstoffer. Forbered testningen, plasma/serum eller urin, ved at isætte et primært eller sekundært prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx™ System, og som indeholder plasma eller serum, i NeuMoDx™ System ved hjælp af en dertil beregnet prøverørholder for at påbegynde automatisk forarbejdning. For plasma-/serumprøver blandes en alikvot på 550 µL af prøven med NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 fra instrumentet, eller alternativt blandes en alikvot på 100 µL af plasma-/serumprøven med NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. For urinprøver blandes en alikvot på 550 µL af prøven med NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 fra instrumentet. NeuMoDx™ System udfører automatisk alle de trin, der er nødvendige for at ekstrahere målnukleinsyren, klargør det isolerede DNA til realtids-PCR-amplifikation og amplifierer og påviser amplifikationsprodukterne, hvis de er til stede. NeuMoDx™ BKV Quant Assay indeholder en DNA-prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) til hjælp til monitorering for forekomst af potentielle inhibitoriske stoffer såvel som NeuMoDx™ System- eller reagensfejl, der kan opstå under ekstraktions- og amplifikationsprocessen.

BK-polyomavirus (BKV) er medlem af Polyomaviridae-familien af dobbeltstrengede DNA-vira (double-stranded DNA, dsDNA). BKV forårsager en almindelig infektion hos børn uden større kliniske følgeeffekter, og >80 % af voksne er seropositive over for BKV.¹ Primær infektion med denne dsDNA-virus er generelt asymptomatisk og forekommer i barndommen. De mest almindelige symptomer, når symptomer bemærkes, er feber og ikke-specifik øvre luftvejsinfektion.² Efter at primær infektion har fundet sted, kan virussen forblive latent på mange steder, især nyrerne. Smitteoverførsel kan ske ved eksponering for kropsvæsker. Ved tilstande med relativ eller absolut cellulær immundefekt kan virussen genaktiveres og forårsage sygdom.²

PCR-baseret kvantificering af virusmængde i plasma/serum og urin er det kliniske standardværktøj til overvågning af BKV-reakivering. Fra studier, hvor der rapporteres kvantitative BKV PCR-resultater, ses en positiv sammenhæng mellem højere virusmængder og en øget sandsynlighed for at udvikle BKV-associeret nefropati (BKV-Associated Nephropathy, BKVAN)¹. Andre kliniske værktøjer, der bruges til at beskrive BKV-aggregater i urinen, er elektronmikroskopi, der medvirker til frembringelse af tredimensionelle BKV-aggregater. Analysen er imidlertid ikke mulig at bruge til rutinemæssig klinisk praksis på grund af omkostningerne og den begrænsede tilgængelighed af elektronmikroskopi.¹

PROCEDUREPRINCIPPER

NeuMoDx™ BKV Quant Assay i NeuMoDx™ System anvender 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 og NeuMoDx™-universalreagenser til analysen. Reagensernes opbevaringstemperatur er +15/+30 °C.

NeuMoDx™ BKV Quant Assay kombinerer automatiseret DNA-ekstraktion, amplifikation og påvisning med realtids-PCR. Plasma-/serumprøver eller urinprøver primære eller sekundære prøverør, der er kompatible med NeuMoDx™ System, anbringes i en prøverørholder, som derefter sættes i NeuMoDx™ System til behandling. Der kræves ingen yderligere indblanding fra operatøren.

NeuMoDx™ System anvender en kombination af varme, lytiske enzymer og ekstraktionsreagenser til automatisk at udføre cellelysis, DNA-ekstraktion og fjernelse af hæmmere. De frigivne nukleinsyrer fanges af paramagnetiske partikler. Partiklerne sammen med de bundne nukleinsyrer isættes i NeuMoDx™ Cartridge, hvor de ubundne/ikke-DNA-komponenter vaskes yderligere væk med NeuMoDx™ Wash Reagent, og det bundne DNA elueres med NeuMoDx™ Release Reagent. NeuMoDx™ Systems anvender derefter det eluerede DNA til at rehydrere egne frysetørrede Sentinel CH-amplifikationsreagenser (STAT-NAT™-teknologi) med alle de elementer, der er nødvendige for PCR-amplifikation af de BKV-specifikke mål og SPC1-målene. Efter rekonstitution af de frysetørrede PCR-reagenser dispenserer NeuMoDx™ System den forberedte PCR-klare blanding ind i en NeuMoDx™ Cartridge. Amplifikation og påvisning af kontrollen og målsekvenserne for DNA (hvis disse findes) sker i PCR-kammeret i NeuMoDx™ Cartridge. NeuMoDx™ Cartridge er designet til at indeholde amplikonet efter realtids-PCR, så risikoen for kontaminering efter amplifikation praktisk talt elimineres.

De amplificerede mål påvises i realtid med hydrolyseprobekemi (almindeligvis omtalt som TaqMan®-kemi) ved hjælp af fluorogene oligonukleotidprobemolekyler, der er specifikke for amplikonerne for deres respektive mål.

TaqMan®-prober består af en fluorofor, der er kovalent sat på 5'-enden af oligonukleotidproben, og en quencher i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluoroforen og quencheren i nærheden af hinanden, hvilket resulterer i, at quenchemolekylet quencher den fluorescens, der udsendes af fluoroforen via FRET (Förster Resonance Energy Transfer).

TaqMan®-prober er designet således, at de afhælder inden for en DNA-region, der er amplificeret af et specifikt sæt primere. Efterhånden som Taq DNA-polymerasen forlænger primeren og syntetiserer den nye streng, nedbryder Taq DNA-polymerasens 5' til 3'-eksonukleaseaktivitet den probe, der har afhædet til skabelonen. Nedbrydning af proben frigiver fluoroforen og bryder den tætte nærhed til quencheren, hvorved quenchingeffekten, der skyldes FRET, ophæves og tillader påvisning af fluorescens fra fluoroforen. Det resulterende fluorescerende signal, der registreres i den kvantitative PCR-termocycler i NeuMoDx™ System, er direkte proportional med den frigivne fluorofor og kan korreleres til mængden af mål-DNA, der er til stede.³

TaqMan®-prober mærket med fluoroforer ved 5'-enden, og quencher ved 3'-enden, anvendes til at påvise BKV-DNA og SPC1-DNA. NeuMoDx™ System-softwaren monitorerer fluorescenssignalet, der udsendes af TaqMan-proberne ved slutningen af hver amplifikationscyklus. Når amplifikationen er færdig, analyserer NeuMoDx™ System-softwaren dataene og rapporterer et endeligt resultat (POSITIVE (positivt)/NEGATIVE (negativt)/INDETERMINATE (ubestemmeligt)/UNRESOLVED (uafklaret)/NO RESULT (intet resultat)). Hvis et resultat er positivt, og den beregnede koncentration er inden for kvantiteringsgrænserne, viser NeuMoDx System-softwaren også en kvantitativ værdi, der er forbundet med prøven.

REAGENSER/FORBRUGSVARER

Medfølgende materiale

REF	Indhold	Enheder pr. pakke	Tests pr. enhed	Tests pr. pakke
201800	NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip <i>Frysetørrede PCR-reagenser med BKV-specifikke TaqMan®-prober og primere ud over SPC1-specifik TaqMan®-probe og primere.</i>	6	16	96

Nødvendige reagenser og forbrugsvarer, der ikke medfølger (kan fås separat hos NeuMoDx)

REF	Indhold
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Tørrede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveproceskontroller</i>
800600	NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit <i>Høje og lave sæt med tørrede BKV-kalibratorer til engangsbrug til at fastlægge standardkurvens gyldighed</i>
900601	NeuMoDx™ BKV External Control Kit <i>Sæt med BKV-positive tørrede kontroller og negative kontroller til engangsbrug til at fastlægge den daglige gyldighed af 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-spids (300 µL) med filtre
235905	Hamilton CO-RE-spids (1000 µL) med filtre

Nødvendige instrumenter

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

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip er kun til *in vitro*-diagnostisk brug med NeuMoDx™ Systems.
- Læs alle instruktionerne i indlægssedlen, inden du udfører testen.
- Brug ikke reagenserne eller forbrugsvarerne efter den angivne udløbsdato.

- Brug ikke reagenserne, hvis sikkerhedsforseglingen er brudt, eller hvis emballagen er beskadiget ved modtagelsen.
- Anvend ikke forbrugsvarerne eller reagenserne, hvis den beskyttende pose er åben eller brudt ved modtagelsen.
- Undlad at iblande reagenser til amplifikation fra andre kit i handlen.
- Må ikke genbruges.
- Hold alle NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips beskyttet mod lys og fugt i deres aluminiumposer.
- En gyldig testkalibrering (genereret ved at behandle høje og lave kalibratorer fra NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit REF 800600) skal være tilgængelig, inden testresultaterne kan genereres for kliniske prøver.
- NeuMoDx™ BKV External Control Kit (REF 900601) skal behandles med 24 timers mellemrum under testningen med NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- Mindste prøvolumen afhænger af rørstørrelses-/prøveørsholder- og prøvolumen-workflow som defineret nedenfor. Et volumen under den anførte minimumværdi kan resultere i fejlen "Quantity Not Sufficient" (kvantitet ikke tilstrækkelig).
- Udførelse af en BKV-analyse på prøver, der har været opbevaret ved ukorrekte temperaturer eller længere end de angivne opbevaringstider, kan resultere i ugyldige eller fejlbehæftede resultater, når NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip anvendes.
- Undgå mikrobiel kontaminering og kontaminering med deoxyribonuklease (DNase) af alle reagenser og forbrugsvarer. Det anbefales at bruge sterile DNase-fri overførselspipetter til engangsbrug, hvis der anvendes sekundære prøverør. Anvend en ny pipette for hver prøve.
- Undgå at håndtere eller adskille en NeuMoDx™ Cartridge efter amplifikation for at undgå kontaminering. Opsaml under ingen omstændigheder NeuMoDx™ Cartridges fra opsamlingsbeholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx™ 288 Molecular System) eller beholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx™ 96 Molecular System). NeuMoDx™ Cartridge er designet til at forhindre kontamination.
- I tilfælde, hvor laboratoriet også udfører PCR-tests på åbne rør, skal der udvises forsigtighed for at sikre, at NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, de yderligere forbrugsvarer og reagenser, der skal bruges til testning, personligt beskyttelsesudstyr som f.eks. handsker og laboratoriekitler og NeuMoDx™ System ikke er kontaminerede.
- Der skal bruges rene, pulverfri nitrilhandsker ved håndtering af NeuMoDx™-reagenser og -forbrugsvarer. Der skal udvises forsigtighed, så den øverste flade i NeuMoDx™ Cartridge, den folieforseglede flade i NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip eller NeuMoDx™ Extraction Plate eller den øverste flade i beholderne med NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 og 5 ikke berøres. Håndtering af forbrugsvarerne og reagenserne må kun foregå ved at berøre sidefladerne.
- Der findes sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for hvert reagens (efter relevans) på www.neumodx.com/client-resources.
- En lodret bjælke i tekstmargenen angiver ændringer i forhold til den tidligere version af brugsanvisningen.
- Vask hænderne grundigt, når testen er udført.
- Der må ikke pipetteres med munden. Der må ikke ryges, drikkes eller spises på områder, hvor der håndteres prøver eller reagenser.
- Prøver skal altid behandles som værende smittefarlige og i overensstemmelse med sikre laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i OSHA Standard on Bloodborne Pathogens⁴, Biosafety Level (Biosikkerhedsniveau) ⁵, eller andre relevante regler for biosikkerhed^{6,7} skal anvendes i forbindelse med materialer, som indeholder eller mistænkes for at indeholde smittefarlige stoffer.
- Bortskaf ubrugte reagenser og affald i overensstemmelse med nationale, provinsielle, statslige og lokale bestemmelser.
- Resultater fra NeuMoDx™ BKV Quant Assay skal fortolkes sammen med resultater af andre kliniske undersøgelser eller laboratorieundersøgelser.
- I lighed med andre tests udelukker negative resultater ikke BKV-infektion.

PRODUKTOPBEVARING, -HÅNDTERING OG -STABILITET

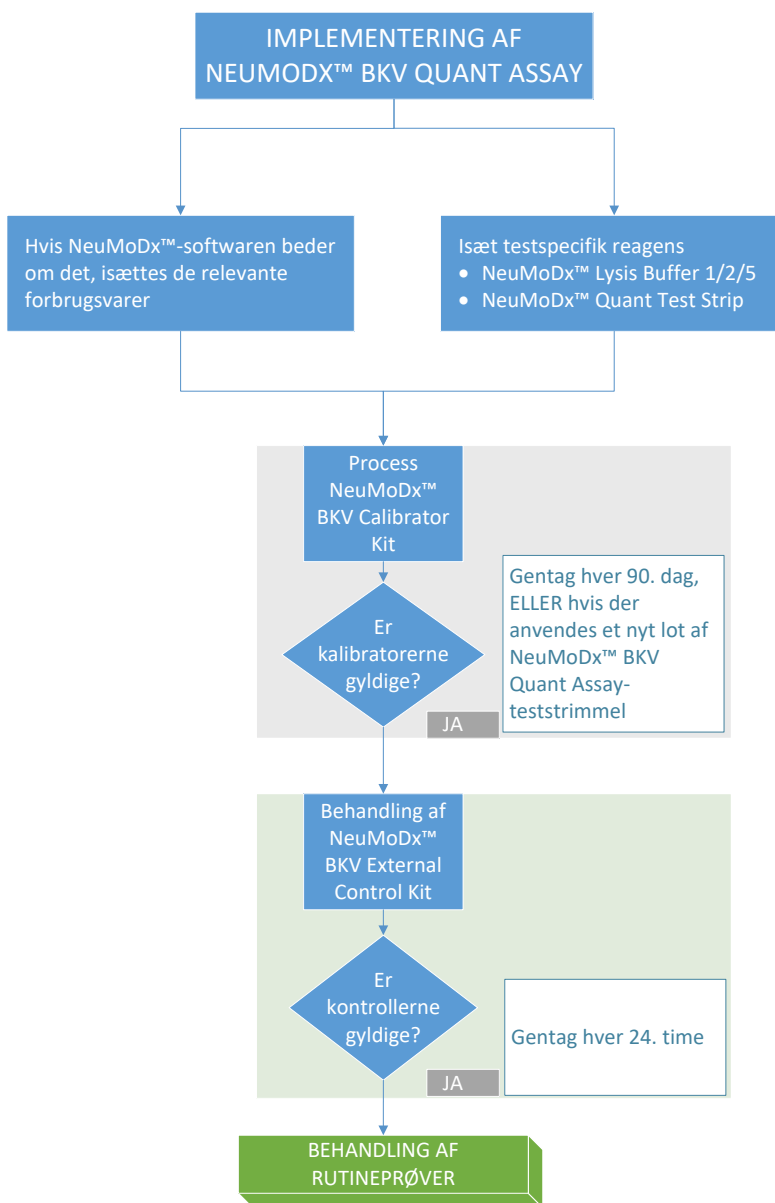
- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips er stabile i den primære emballage ved 15 til 30 °C og indtil den angivne udløbsdato på den umiddelbare produktetiket.
- Når en NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip er sat i NeuMoDx™ System, er den stabil i 32 dage. NeuMoDx™ System-softwaren vil bede om at få fjernet teststrimler, der har været i brug i NeuMoDx™ System i mere end 32 dage, og der skal åbnes og isættes nye NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips i NeuMoDx™ System. Fjern ikke aluminiumsfolien fra strimlen under isætning på NeuMoDx System.
- NeuMoDx™-kalibratorer og -kontroller er ikke-infektive, men skal bortskaffes som biologisk farligt laboratorieaffald efter brug, da de indeholder målmateriale efter behandling på systemet, hvilket kan medføre kontaminering, hvis det ikke håndteres korrekt.

PRØVEINDSAMLING, TRANSPORT OG OPBEVARING

1. Håndter alle prøver, som om de kan overføre smitstoffer.
2. Fuldblod eller plasma-/serumprøver, der opbevares i primære rør, må ikke nedfryses.
3. Fuldblod skal opsamles i sterile rør, der indeholder EDTA til antikoagulation, til klargøring af plasmaprøver. Serumprøver skal klargøres i serumseparatorrør. Urinprøver skal indsamles i sterile rør eller kopper. Følg instruktionerne fra producenten af prøvetagningsrørene.
4. Fuldblod, der er opsamlet i de enheder, der er anført på listen ovenfor, skal opbevares og/eller transporteres i op til 24 timer ved 2 °C til 8 °C inden klargøring af plasma/serum. Klargøring af prøver skal foretages i henhold til producentens anvisninger.
5. Opbevaring ved omgivelsestemperatur af frisk ubehandlet urin bør minimeres, da det lave pH og det høje urinstofindhold hurtigt denaturerer DNA, især ved 25 °C og derover.

6. Klargjorte plasma-/serumprøver og urinprøver kan opbevares i NeuMoDx™ System i op til 24 timer inden behandling. Hvis yderligere opbevaringstid er påkrævet, anbefales det, at prøverne enten nedkøles eller nedfryses som sekundære alikvoter.
7. Klargjorte plasma-/serumprøver og urinprøver skal opbevares ved 2 °C og 8 °C i maksimalt 8 dage før testning og i maksimalt 24 timer ved stuetemperatur.
8. Klargjorte prøver kan opbevares ved < -20 °C i op til 8 uger for plasma og 2 uger for serum inden behandling. Hverken plasma- eller serumprøver må udsættes for mere end 2 cyklusser med frysning/optøning, inden de anvendes.
 - a. Hvis prøverne fryses, skal de tøj helt op ved stuetemperatur (15-30 °C). Bland dem i vortexer for at få en ensartet fordeling i prøverne.
 - b. Når de frosne prøver er tøj, skal testen udføres inden for 24 timer.
 - c. Det er ikke anbefalet at nedfryse plasma/serum i primære prøvetagningsrør.
9. Efter behandling kan urinprøver opbevares ved 2 °C til 8 °C.
10. Hvis prøverne sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende regler i landet og/eller internationale regler.
11. Mærk prøverne tydeligt, og angiv, at prøverne er til BKV-testning.
12. Fortsæt til afsnittet *Testklargøring*.

Den samlede proces for implementering af NeuMoDx™ BKV Quant Assay er opsummeret i *Figur 1*.



Figur 1: Arbejdsgang for implementering af NeuMoDx™ BKV Quant Assay

BRUGSANVISNING

Testklargøring

For plasma-/serumprøver kan NeuMoDx BKV Quant Assay køres direkte fra primære blodprøvetagningsrør eller fra prøvealiquoter i sekundære rør. Behandling kan foregå med et af to behandlingsworkflows for prøvevolumen – workflow for 550 µL prøvevolumen eller workflow for 100 µL prøvevolumen. Urinprøver analyseres kun med brug af workflow for 550 µL prøvevolumen.

1. Sæt prøvestregkodeetiket på et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx™ System. Det primære blodprøvetagningsrør kan forsynes med etiket og sættes direkte i en prøverørsholder med plads til 32 rør efterfulgt af centrifugering i henhold til producentens vejledning.
2. Hvis plasma-/serumprøven skal testes i det primære prøvetagningsrør, skal du sætte røret med stregkode i en prøverørsholder og sørge for, at hættens er taget af, inden røret sættes i NeuMoDx System. Mindstevolumener **over** gel/buffylag er defineret herunder og vil være opfyldt, hvis prøver opsamles og behandles i henhold til rørproducentens vejledning. Ydeevnen kan ikke garanteres for prøver, der er opsamlet ukorrekt.

Blodprøveindsamling Rørtype	Mindste nødvendige prøvevolumen	
	550 µL workflow	100 µL workflow
SST – 3,5 mL	1550 µL	1150 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 µL	1400 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 µL	2150 µL
K ₂ EDTA/serum – 4,0 mL	1050 µL	650 µL
K ₂ EDTA/serum – 6,0 mL	1250 µL	850 µL
K ₂ EDTA/serum – 10,0 mL	1600 µL	1200 µL

3. Ved brug af urinprøver eller plasma-/serumprøver i et sekundært rør skal du overføre en aliquot af plasmaet/serummet til et prøverør med stregkode, der er kompatibelt med NeuMoDx System, i henhold til nedenstående mængder:

Prøverørsholder	Rørstørrelse	Mindste nødvendige prøvevolumen	
		550 µL workflow	100 µL workflow (Kun plasma/serum)
32-Tube Specimen Tube Carrier (prøverørsholder til 32 rør)	11-14 mm diameter gange 60-120 mm højde	700 µL	350 µL
24-Tube Specimen Tube Carrier (prøverørsholder til 24 rør)	14,5-18 mm diameter gange 60-120 mm højde	1100 µL	750 µL
Low Volume Specimen Tube Carrier (prøverørsholder med lavt volumen)	1,5 mL mikrocenrifugerør med konisk bund	650 µL	250 µL

Betjening af NeuMoDx System

Der står flere oplysninger i brugervejledningerne til NeuMoDx™ 288 og 96 Molecular System (p/n 40600108 & 40600317)

1. Indtast testbestillingen i NeuMoDx System i henhold til den ønskede type af prøve og prøverør:
 - 550 µL prøvevolumen testes ved at definere prøvetypen som "**Plasma**", "**Serum**" eller "**Urin**"
 - 100 µL prøvevolumen testes ved at definere prøvetypen som "**Plasma2**" eller "**Serum2**"
 - Medmindre andet defineres i testbestillingen, bliver prøvetypen **Plasma** i et **Secondary Tube** (sekundært rør) anvendt som standard.
2. Klip aluminiumsposerne med NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip op på det sted, der er angivet med de laterale hak.
3. Tag først stripsene ud af posen umiddelbart før brug.
4. Før du bruger poserne, skal du altid sikre, at de er godt forseglede, og at tørremiddelposen stadig er indeni. Brug kun ubeskadige pakker.
5. Kassér aluminiumsposerne og deres indhold, hvis posen med tørremiddel ændrer farve fra orange til grøn.
6. Sæt NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip(s) i én eller flere NeuMoDx™ System-teststrimmelholder(e), og brug berøringskærmen til at sætte teststrimmelholde(e) i NeuMoDx™ System.
7. Hvis NeuMoDx™ System-softwaren beder om det, tilsættes de nødvendige påkrævede forbrugsvarer til NeuMoDx™ Systems holdere til forbrugsvarer, og berøringskærmen bruges til at sætte holderen/holderne i NeuMoDx™ System.

8. Hvis NeuMoDx™ System-softwaren beder om det, skal du udskifte NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, tømme primingaffaldet, opsamlingsbeholderen til biologisk farligt affald (kun NeuMoDx 288 Molecular System), beholderen til biologisk farligt spidsaffald (kun NeuMoDx 96 Molecular System) eller beholderen til biologisk farligt affald (kun NeuMoDx 96 Molecular System) efter behov.
9. Hvis NeuMoDx™ System-softwaren beder om det, skal Calibrators (REF 800600) og/eller External Controls (REF 900601) behandles som påkrævet. Der er yderligere oplysninger vedrørende kalibratorer og kontroller i afsnittet *Resultatbehandling*.
10. Sæt prøverørret/prøverørene ind i en standarddugave af prøverørsholderen til 32 rør, og sørg for, at hæfterne er taget af alle rør.
11. Anbring prøverørsholderen på en ledig plads på hylden til automatisk isætning, og brug berøringskærmen til at isætte holderen i NeuMoDx™ System. Derved startes behandlingen af de isatte prøver for de identificerede tests, forudsat at der er en gyldig testbestilling i systemet.

BEGRÆNSNINGER

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip kan kun anvendes på NeuMoDx™ System.
- Ydeevnen for NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip er blevet fastlagt for plasmaprøver, der blev klargjort fra fuldblod, der var opsamlet med EDTA som antikoagulerende middel, og anvendelsen af NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip sammen med andre kliniske prøvetyper er ikke vurderet, og ydelseskaraktistika for testen kendes ikke for andre prøvetyper.
- En svag stigning i påvisningsgrænsen og den laveste grænse for kvantitering af NeuMoDx™ BKV Quant Assay er blevet observeret, når workflowet for 100 µL prøvevolumen anvendes.
- NeuMoDx™ BKV Quant Assay må ikke anvendes med prøver fra personer, der har fået blodfortyndende medicin.
- Da påvisningen af BKV afhænger af antallet af organismer, der er til stede i prøven, afhænger pålidelige resultater af korrekt prøveindsamling, håndtering og opbevaring.
- Kalibratorer og eksterne kontroller skal behandles i henhold til anbefalingen i indlægssedlerne, og som NeuMoDx™ System-softwaren angiver, inden behandling af rutinemæssige kliniske prøver.
- Der kan forekomme fejlbehæftede resultater fra forkert prøveindsamling, håndtering, opbevaring, tekniske fejl eller forveksling af prøverør. Desuden kan der forekomme falske negative resultater, fordi antallet af viruspartikler i prøven er lavere end påvisningsgrænsen i NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- Kun personale, der er uddannet i brugen af NeuMoDx™ System, må betjene NeuMoDx™ System.
- Hvis både BKV-målet og SPC1-målet ikke amplificeres, vil resultatet blive rapporteret som ugyldigt (Indeterminate (ubestemmeligt), No Result (intet resultat) eller Unresolved (uafklaret)), og testen skal gentages.
- Hvis resultatet fra NeuMoDx™ BKV Quant Assay er Positive (positiv), men kvantiteringsværdien er under grænserne for kvantitering, vil NeuMoDx™ System rapportere, om det påviste BKV var under den laveste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller over den øverste grænse for kvantitering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Hvis det påviste BKV var under LLoQ, kan NeuMoDx™ BKV Quant Assay gentages (hvis det ønskes) med en anden alikvot af prøven.
- Hvis det påviste BKV er over ULoQ, kan NeuMoDx™ BKV Quant Assay gentages med en fortyndet alikvot af den oprindelige prøve. Det anbefales at anvende en fortynding på 1:1000 i BKV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Koncentrationen af den oprindelige prøve kan beregnes som følger:

$$\text{Koncentration af oprindelig prøve} = \log_{10}(\text{fortyndingsfaktor}) + \text{rapporteret koncentration af den fortyndede prøve}.$$
- Der kan af og til være en forekomst af PCR-hæmmere i plasma/serum eller urin, som kan føre til en Quantitation Error (kvantiteringsfejl) i systemet. Hvis det sker, anbefales det at gentage testen med samme prøve fortyndet i Basematrix med 1:10 eller 1:100.
- Et positivt resultat indikerer ikke nødvendigvis forekomsten af levedygtige organismer. Men et positivt resultat angiver, at det er sandsynligt, at der er BKV-DNA.
- Deletion eller mutationer i de bevarede regioner, som NeuMoDx™ BKV Quant Assay er målrettet mod, kan få indflydelse på påvisningen eller føre til et fejlbehæftet resultat ved brug af NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Resultater fra NeuMoDx™ BKV Quant Assay skal anvendes som et supplement til kliniske observationer og andre oplysninger, der er tilgængelige for lægen. Testen er ikke beregnet til diagnosticering af infektion.
- God laboratoriepraksis anbefales, herunder handskeskift mellem håndtering af patientprøver for at undgå kontaminering.

RESULTATBEHANDLING

Tilgængelige resultater kan vises eller udskrives fra fanen "Results" (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på NeuMoDx™ Systems berøringskærm.

NeuMoDx™ BKV Quant Assay-resultater genereres automatisk af NeuMoDx™ System-softwaren ved hjælp af beslutningsalgoritmen og de parametre for resultatbehandling, der er angivet i NeuMoDx™ BKV-analysedefinitionsfilen (BKV ADF). Et resultat med NeuMoDx™ BKV Quant Assay kan rapporteres som Negative (negativt), Positive (positivt) med en rapporteret BKV-koncentration, Positive (positivt) over ULoQ, Positive (positivt) under LLoQ, Indeterminate (IND) (ubestemmeligt), No Result (NR) (intet resultat) eller Unresolved (UNR) (uafklaret) baseret på målets og prøveproceskontrollens amplifikationsstatus. Resultater rapporteres ud fra beslutningsalgoritmen, som er opsummeret nedenfor i *Tabel 1*.

Tabel 1: Opsummering af beslutningsalgoritme for NeuMoDx BKV Quant Assay

Resultat	BKV	Prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1)	Fortolkning af resultat
Positive (positivt) med rapporteret koncentration	Amplified (amplificeret) 1,3 ≤ [BKV] ≤ 8,0 log ₁₀ IE/mL (550 µL workflow)* 2,3 ≤ [BKV] ≤ 8,0 log ₁₀ IE/mL (100 µL workflow)*	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	BKV-DNA påvist inden for kvantitativt område
Positive (positivt), over øverste grænse for kvantitering [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]	Amplified (amplificeret) [BKV] > 8,0 log ₁₀ IE/mL	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	BKV-DNA påvist over kvantitativt område
Positive (positivt), under laveste grænse for kvantitering [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]	Amplified (amplificeret) [BKV] < 1,3 log ₁₀ IE/mL (550 µL workflow)* [BKV] < 2,3 log ₁₀ IE/mL (100 µL workflow)*	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	BKV-DNA påvist under kvantitativt område
Negative (negativt)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Amplified (amplificeret)	BKV-DNA ikke påvist
Indeterminate (ubestemmeligt)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (ikke amplificeret, systemfejl registreret, prøvebehandling fuldført)		Alle målresultater var ugyldige – test prøven igen†
No Result (intet resultat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (ikke amplificeret, systemfejl registreret, prøvebehandling afbrudt)		Prøvebehandlingen blev afbrudt – test prøven igen†
Unresolved (uafklaret)	Not Amplified, No System Error Detected (ikke amplificeret, ingen systemfejl registreret)		Alle målresultater var ugyldige – test prøven igen†

*550 µL workflow anvendes med plasma-/serumprøver og urinprøver. 100 µL workflow anvendes kun med plasma-/serumprøver.

†NeuMoDx System har en automatisk funktion til Rerun (ny kørsel)/Repeat (gentag), som slutbrugeren kan vælge for at sikre, at et IND (UBEST.)/NR (INTET RES.)/UNR (UAFKL.) resultat automatisk genbehandles for at sikre så hurtige resultater som muligt.

Testberegning

- For prøver, der ligger inden for kvantiteringsområdet for NeuMoDx™ BKV Quant Assay, beregnes koncentrationen af BKV-DNA i prøverne ved hjælp af den gemte standardkurve sammen med kalibreringskoefficienten og prøvevolumenen.
 - Der beregnes en kalibreringskoefficient ud fra resultaterne fra det behandlede NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit for at fastlægge gyldigheden af standardkurven for et bestemt lot af NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip på et bestemt NeuMoDx™ System.
 - Kalibreringskoefficienten indgår i den endelige bestemmelse af koncentrationen af BKV-DNA.
 - NeuMoDx Software tager højde for anvendt prøvevolumen ved bestemmelse af koncentrationen af BKV-DNA pr. mL prøve.
- NeuMoDx™ BKV Quant Assay-resultaterne rapporteres i log₁₀ IE/mL.
- Den deraf følgende kvantitering af de ukendte prøver er sporbar i henhold til 1st WHO International Standard for BK virus (BKV) (14/212)⁹.

Testkalibrering

En gyldig kalibrering baseret på standardkurven er nødvendig for at kvantitere BKV-DNA i prøverne. For at generere gyldige resultater skal der gennemføres en testkalibrering med de kalibratorer, der er leveret af NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Kalibratorer

- NeuMoDx™ BKV Calibrators leveres i et kit (REF 800600) og består af en tørret pellet af syntetisk BKV-DNA.
- Der skal behandles et sæt BKV-kalibratorer med hvert nyt lot af NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips, hvis en ny BKV analysedefinitionsfil uploades i NeuMoDx™ System, hvis det aktuelle kalibratorsæt har overskredet gyldighedstiden (i øjeblikket indstillet til 90 dage), eller hvis NeuMoDx™ System-softwaren ændres.
- NeuMoDx™ System-softwaren vil informere brugeren, når kalibratorerne skal behandles. Et nyt lot af teststrimler kan ikke bruges, før behandlingen af kalibratorerne er gennemført.
- Hvis et nyt sæt BKV-kalibratorer skal behandles, skal du læse alle instruktionerne i indlægssedlen til NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, inden du udfører testen.

5. Kalibreringens gyldighed fastlægges efter følgende metode:
 - a) Et sæt med to kalibratorer – høj og lav – skal behandles for at fastlægge gyldigheden.
 - b) For at generere gyldige resultater skal mindst 2 ud af 3 replikater give resultater inden for på forhånd definerede parametre. Det nominelle mål for den lave kalibrator er $3 \log_{10}$ IE/mL, og det nominelle mål for den høje kalibrator er $5 \log_{10}$ IE/mL.
 - c) Der beregnes en kalibreringskoefficient for at tage højde for forventet variation i test strip lots; denne kalibreringskoefficient bruges til bestemmelse af den endelige BKV-koncentration.
6. Hvis gyldighedskontrollen ikke lykkes for den ene eller begge kalibratorer, skal behandlingen af den eller disse kalibrator(er) gentages med et nyt hætteglas. Hvis gyldigheden ikke er som ønsket for en kalibrator, er det muligt kun at gentage denne kalibrator, da systemet ikke kræver, at brugeren skal køre begge kalibratorer igen.

Kvalitetskontrol

Lokale bestemmelser angiver typisk, at laboratoriet er ansvarligt for kontrolprocedurer, der monitorerer nøjagtighed og præcision for hele den analytiske proces og skal dokumentere antal, type og hyppighed for testkontrolmaterialer ved hjælp af verificerede ydelsesspecifikationer for et umodificeret, godkendt testsystem.

Eksterne kontroller

1. BKV External Controls leveres af NeuMoDx Molecular, Inc. i BKV External Control Kit (REF900601). De positive kontroller indeholder en tørret pellet af syntetisk BKV-DNA.
2. Der skal behandles positive og negative eksterne kontroller hver 24. time. Hvis et sæt gyldige eksterne kontroller ikke findes, vil NeuMoDx™ System-softwaren bede brugeren om, at behandle disse kontroller, inden prøveresultaterne kan rapporteres.
3. Hvis eksterne kontroller er påkrævet, skal du klargøre de positive og negative kontroller som angivet i indlægssedlen til NeuMoDx BKV External Control Kit, før testen udføres.
4. Ved hjælp af berøringskærmen og en prøverørsholder, der er anbragt på hylden til automatisk isætning, isættes hætteglassene med positiv og negativ kontrol i NeuMoDx™ System. NeuMoDx™ System vil genkende stregkoden og påbegynde behandling af prøverørene, medmindre de reagenser eller forbrugsvarer, der skal bruges til testen, ikke er til rådighed.
5. Gyldigheden af de eksterne kontroller vil blive vurderet af NeuMoDx™ System baseret på det forventede resultat. Den positive kontrol bør give et BKV Positive (positivt) resultat, og den negative kontrol bør give et BKV Negative (negativt) resultat.
6. Et afvigende resultat for eksterne kontroller håndteres som følger:
 - a) Et Positive (positivt) testresultat, der rapporteres for en negativ kontrolprøve, angiver et problem med kontamination af en prøve.
 - b) Et Negative (negativt) testresultat, der rapporteres for en positiv kontrolprøve, kan indikere, at der er et problem i forbindelse med et reagens eller et instrument.
 - c) I begge ovenstående tilfælde eller i tilfælde af et Indeterminate (IND) (ubestemmeligt) eller No Result (NR) (intet resultat) skal NeuMoDx™ BKV External Controls gentages med et nyt hætteglas for den/de kontrol(ler), hvor gyldighedstesten ikke lykkedes.
 - d) Hvis der fortsat rapporteres et Negative (negativt) resultat for en positiv NeuMoDx™ BKV External Control, skal du kontakte kundeservice hos NeuMoDx™.
 - e) Hvis der fortsat rapporteres et Positive (positivt) resultat for en negativ NeuMoDx™ BKV External Control, skal du forsøge at eliminere alle kilder til en mulig kontaminering, herunder at udskifte ALLE reagenser, inden du kontakter kundeservice hos NeuMoDx™.

(Interne) prøveproceskontroller

Der er indbygget en eksogen prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) i NeuMoDx™ Extraction Plate, og denne bliver udsat for hele processen med nukleinsyreekstraktion og realtids-PCR-amplifikation sammen med hver prøve. Desuden indeholder hver NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip-primere og probe, der er specifikke for SPC1, så SPC1 kan påvises sammen med mål-BKV-DNA (hvis dette er til stede) via multiplex-realtids-PCR. Påvisning af SPC1-amplifikation gør det muligt for NeuMoDx™ System-softwaren at monitorere effekten af DNA-ekstraktions- og PCR-amplifikationsprocesserne.

Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx™ BKV Quant Assay der er udført i NeuMoDx™ System, ikke leverer et gyldigt resultat, rapporteres den som enten Indeterminate (IND) (ubestemmeligt), No Result (NR) (intet resultat) eller Unresolved (UNR) (uafklaret) baseret på den fejltipe, der fandt sted.

Der rapporteres et IND (ubestemmeligt) resultat, hvis der registreres en NeuMoDx™ System-fejl under prøvebehandling. Hvis IND (ubestemmeligt) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

UNR (uafklaret) vil blive rapporteret som resultat, hvis der ikke påvises en gyldig amplifikation af BKV-DNA eller SPC1, hvilket angiver en mulig reagensfejl eller forekomst af hæmmere. Hvis UNR (uafklaret) rapporteres som resultat, kan der køres en omtest som første trin. Hvis omtesten ikke lykkes, kan der anvendes en fortyndet prøve for at dæmpe virkningen af en eventuel prøveinhibering.

Hvis en NeuMoDx BKV Quant Assay foretaget på NeuMoDx System ikke giver et gyldigt resultat, og prøvebehandlingen afbrydes inden færdiggørelse, rapporteres der et No Result (NR) (intet resultat). Hvis NR (intet resultat) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

YDELSESKARAKTERISTIKA

Analytisk sensitivitet – påvisningsgrænse¹²

Den analytiske sensitivitet i NeuMoDx™ BKV Quant Assay blev beskrevet gennem test af en fortyndingsserie af EDX BKV Verification Panel (fra Exact Diagnostics), kalibreret efter 1st WHO International Standard for BK virus (BKV) (14/212)⁹, i BKV-negative plasma-/serumprøver og urinprøver, for at bestemme påvisningsgrænsen (Limit of Detection, LoD) i NeuMoDx™ System. For plasma/serum (550 µL) og urin blev LoD defineret som det nærmeste målniveau, eksperimentelt bestemt, over koncentrationen bestemt ved probitanalyse med 95 % konfidensinterval (Confidence Interval, CI). For plasma/serum (100 µL) blev en enkelt prøvekoncentration på 200 IE/mL undersøgt ved træfprocentanalyse og valideret for LoD, hvis påvisningsraten var over 95 %. Studiet blev foretaget i løbet af 3 dage i flere systemer med flere lot af NeuMoDx™-reagenser. Hvert system behandlede 42 replikater ved hvert fortyndingsniveau (positive prøver) og 8 replikater for negative prøver pr. dag. Påvisningsrater er afbildet i *Tabel 2 og 3*.

Tabel 2: Positive påvisningsrater til LoD-bestemmelse af NeuMoDx™ BKV Quant Assay (plasma/serum 550 µL og urin)

Målkonzentration [IE/mL]	Målkonzentration [log ₁₀ IE/mL]	PLASMA/SERUM 550 µL workflow			URIN		
		Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate	Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate
50	1,70	41	41	100%	41	41	100%
20	1,30	42	42	100%	40	39	98%
10	1,00	41	35	85%	41	31	76%
5	0,30	41	16	39%	41	12	29%
NEG	0,00	20	0	0%	24	0	0%

Tabel 3: Positive påvisningsrater til LoD-bestemmelse af NeuMoDx™ BKV Quant Assay (plasma/serum 100 µL)

Målkonzentration [IE/mL]	Målkonzentration [log ₁₀ IE/mL]	PLASMA/SERUM 100 µL workflow		
		Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate
200	2,30	89	88	99%

LoD for the NeuMoDx™ BKV Quant Assay i plasma/serum (550 µL workflow) blev bestemt til at være 20 IE/mL (1,3 log₁₀ IE/mL) med 95 % konfidensinterval (Confidence Interval, CI) på 11,03. I urin blev LoD bestemt til at være 20,0 IE/mL (1,3 log₁₀ IE/mL) med 95 % konfidensinterval (Confidence Interval, CI) på 13,09. I plasma/serum (100 µL workflow) blev LoD bestemt til at være 200 IE/mL (2,3 log₁₀ IE/mL).

Analytisk sensitivitet – laveste kvantiteringsgrænse (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) og øverste kvantiteringsgrænse (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

Den laveste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) og den øverste grænse for kvantitering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) defineres som det laveste målniveau, hvor > 95 % påvisning opnås, OG TAE ≤ 1,0. For at bestemme LLoQ og ULoQ blev analytiske fejl i alt (Total Analytical Error, TAE) beregnet for hver af de BKV-målniveauer, der var vist i rapporterne med > 95 % påvisning. TAE defineres som følger:

$$TAE = \text{bias} + 2 \cdot SD \text{ [Westgard-regler]}$$

Biasen er den absolutte værdi af differencen mellem den beregnede koncentration og den forventede koncentration. SD refererer til standardafvigelsen af den kvantiterede værdi af prøven.

En samlet præsentation af resultaterne for de 5 niveauer af BKV-plasma-/serumprøver eller -urinprøver, som blev brugt i LLoQ-/ULoQ-studiet, er vist i *Tabel 4 og 5*. Baseret på dette datasæt og tidligere fastlagt LoD blev LLoQ og ULoQ bestemt til at være henholdsvis 20 IE/mL (1,3 log₁₀ IE/mL) og 7,58x10⁷ IE/mL (her tilnærmet til 8 log₁₀ IE/mL) for plasma/serum 550 µL og urin og 200 IE/mL (2,3 log₁₀ IE/mL) for plasma/serum 100 µL.

Tabel 4: NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ULoQ og LLoQ, med bias og TAE (plasma/serum 550 µL og urin)

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

Tabel 5: NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ULoQ og LLoQ, med bias og TAE (plasma/serum 100 µL)

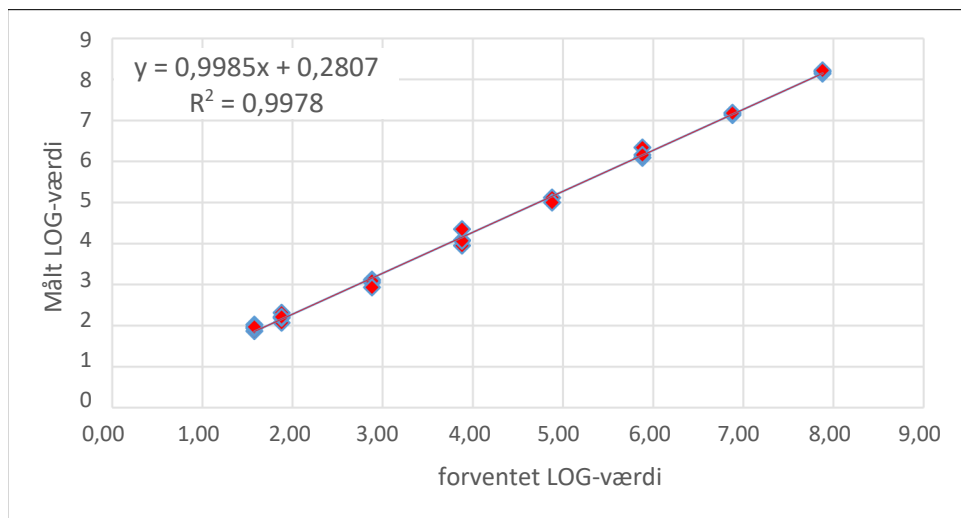
Målkonc. [IE/mL]	Målkonc. [log ₁₀ IE/mL]	Plasma/serum 100 µL				
		Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ IE/mL]	Påvisning (%)	SD	Bias	TAE
7,58x10 ⁷	8	8	100	0,09	0,07	0,25
200	2,30	2,30	99	0,39	0,003	0,78

Baseret på resultatet af disse studier blev LoD og LLoQ for NeuMoDx™ BKV Quant Assay begge fastlagt til at være 20 IE/mL (1,3 log₁₀ IE/mL) for plasma/serum og urin med 550 µL workflow, og 200 IE/mL (2,30 log₁₀ IE/mL) for plasma/serum, når 100 µL workflow blev anvendt. ULoQ for alle prøvetyper er 7,58x10⁷ IE/mL (8 log₁₀ IE/mL).

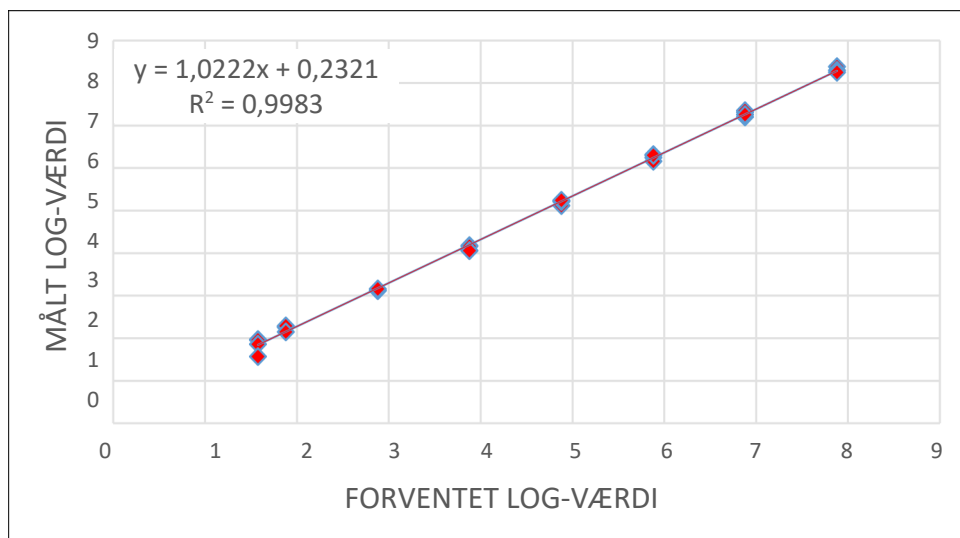
Linearitet ¹³

Lineariteten af NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip blev fastlagt i plasma/serum og urin ved at klargøre en fortyndingsserie ved hjælp af syntetisk BKV-plasmid (fra Integrated DNA Technologies) med etableret sporbarhed til 1st WHO International Standard for BK virus (BKV) (14/212)⁹. 11 seriefortyndinger af syntetisk BKV-plasmid, klargjort i BKV-negativ BaseMatrix 53 eller poollet BKV-negativ human urin, blev fremstillet til at dække et koncentrationsområde på 7,88-1,58 log₁₀ IE/mL for plasma/serum 550 µL og urin og et koncentrationsområde på 6,88-2,88 log₁₀ IE/mL for plasma/serum 100 µL.

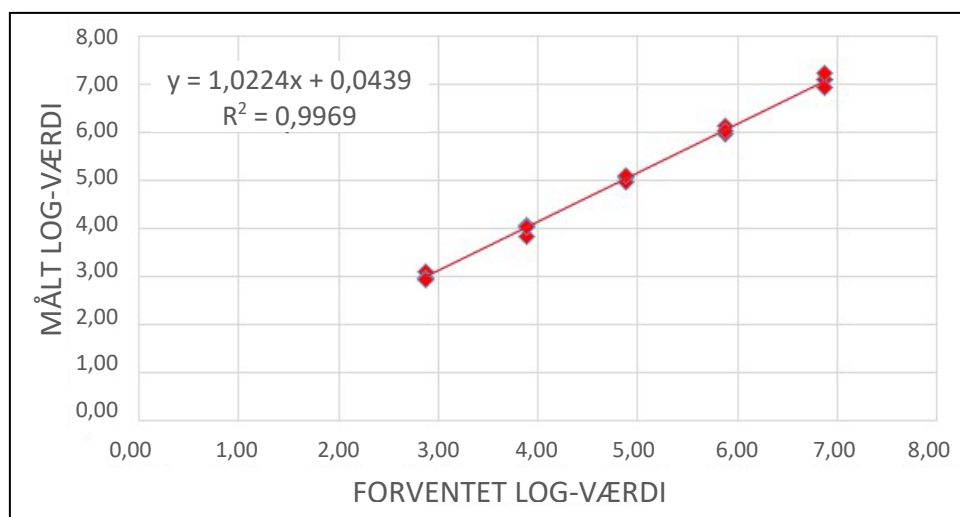
De BKV-analysekoncentrationer, der blev rapporteret fra NeuMoDx™ System, sammenlignet med de forventede værdier, er vist i *Figur 2, 3 og 4*.



Figur 2: Lineariteten for NeuMoDx™ BKV Quant Assay for plasma/serum (550 µL workflow)



Figur 3: Lineariteten for NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip for urinprøver



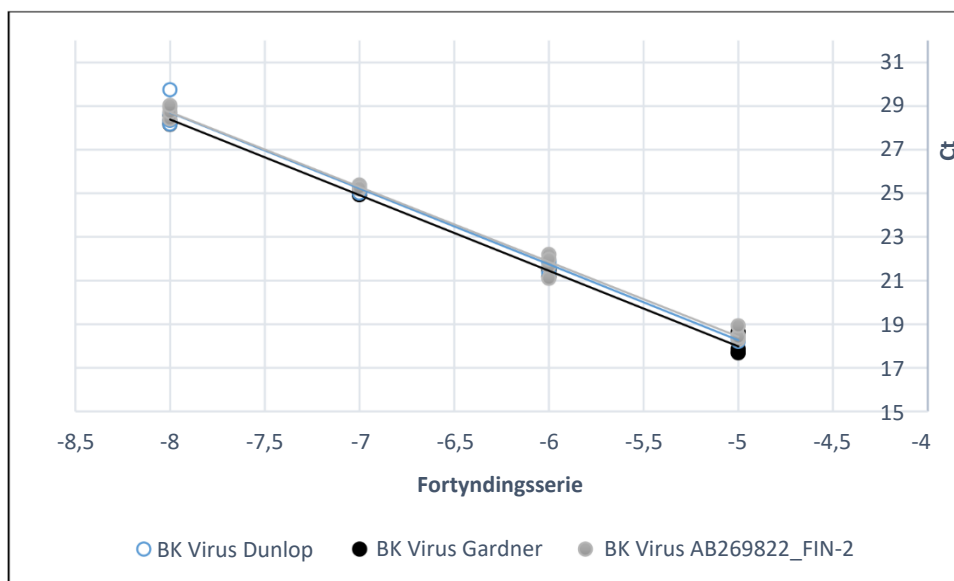
Figur 4: Lineariteten for NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip for plasma/serum (100 µL workflow)

Linearitet for alle genotyper¹⁶

Lineariteten for NeuMoDx BKV Quant Assay på tre BKV-genotyper (BK Virus Dunlop, BK Virus Gardner, BK Virus AB269822_FIN-2) blev beskrevet gennem testning af fire forskellige koncentrationer af hver genotype af BKV klargjort i BKV-negativ BaseMatrix 53. BK Virus S72390-genotypen viser ikke polymorfier i den genmålregion, der dækkes af NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip. Studiet blev foretaget ved at teste 4 replikater af 3 genotyper i 6 forskellige koncentrationer (serier med 10 gange fortynding). Lineariteten for alle tre BKV-genotyper er vist i *Tabel 6* og *Figur 5*.

Tabel 6: Linearitet for NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip for alle genotyper

Genotype	Linearitetsligning y = NeuMoDx BKV Assay Ct x = Fortyndingsserie	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



Figur 5: Linearitet for NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip for alle genotyper

Analytisk specificitet – krydsreaktivitet ^{10,11}

Der blev påvist analytisk specificitet gennem screening af 22 organismer, der er almindeligt forekommende i blod-/plasmaoprøver eller urinoprøver, samt arter, der fylogenetisk svarer til BKV med hensyn til krydsreaktivitet. Organismene blev klargjort i pools af 5-6 organismer hver og testet ved en høj koncentration. De testede organismer er vist i *Tabel 7*. Der sås ingen krydsreaktivitet med nogen af de testede organismer, hvilket bekræfter 100 % analytisk specificitet for NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Tabel 7: Patogener anvendt til at påvise analytisk specificitet

Ikke-målorganismer					
HTLV-1/2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Hepatitis B-virus	Adenovirus type 5	Epstein-Barr Virus	Varicella-Zoster-virus	Hepatitis C-virus
Herpes Simplex Virus type 1	Herpes Simplex Virus type 2	Humant Herpes Virus type-6	Humant Herpes Virus type-7	Humant Herpes Virus type-8	Human immundefektvirus 1
Human immundefektvirus-2	JC-virus	SV40	<i>Cytomegalovirus</i>		

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, kommensale organismer ^{10,11}

NeuMoDx™ BKV Quant Assay blev vurderet for interferens ved forekomst af ikke-målorganismer, hvor de samme organismepools blev brugt, som dem der var klargjort til test for krydsreaktivitet i listen ovenfor i *Tabel 7*. Negativt BKV-plasma fik tilsat de organismer, der var poollet i grupper på 5-6, samt et BKV-mål i en koncentration på 4 log₁₀ IE/mL. Der sås ingen signifikant interferens ved forekomst af disse kommensale organismer, som angivet i kraft af den minimale afvigelse i kvantiteringen i forhold til kontrolprøverne, som ikke indeholdt interfererende stoffer.

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, endogene og eksogene stoffer ^{10,11}

NeuMoDx™ BKV Quant Assay blev vurderet ved forekomst af de typiske eksogene og endogene interfererende stoffer, der findes i kliniske BKV-prøver af plasma/serum eller urin. Disse omfattede unormalt høje niveauer af blod- eller urinbestanddele samt almindelige antivirale lægemidler, som er klassificeret i *Tabel 8*. Hvert stof blev tilføjet i screenet BKV-negativt BaseMatrix 53 eller human urin, der havde fået tilsat 3 log₁₀ IE/mL BKV, og prøverne blev analyseret for interferens. Den gennemsnitlige koncentration og bias for alle testede stoffer sammenlignet med kontrolprøverne, som har fået tilsat samme niveau af BKV, er rapporteret i *Tabel 9*. Ingen af de eksogene og endogene stoffer påvirkede specificiteten i NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Tabel 8: Interferenstest – eksogene midler (klassificeret som lægemidler)

Pool	Lægemiddelnavn	Klassifikation
Pool 1	Valganciclovir	ANTIVIRALT MIDDEL
	Prednison	IMMUNSUPPRIMERENDE LÆGEMIDDEL
	Cidofovir	ANTIVIRALT MIDDEL
	Cefotaxim	ANTIBIOTIKA
	Mycophenolatmofetil	IMMUNSUPPRIMERENDE LÆGEMIDDEL
Pool 2	Vancomycin	ANTIBIOTIKA
	Tacrolimus	IMMUNSUPPRIMERENDE LÆGEMIDDEL
	Famotidin	HISTAMINANTAGONIST
	Valacyclovir	ANTIVIRALT MIDDEL
	Leflunomid	IMMUNSUPPRIMERENDE LÆGEMIDDEL

Tabel 9: Interferenstest – eksogene og endogene midler

Endogene (plasma/serum)	Gennemsnitlig konc.	Bias
	log ₁₀ IE/mL	log ₁₀ IE/mL
Triglycerider 500 mg/dL	3,09	0,16
Konjugeret bilirubin (0,25 g/L)	3,09	0,16
Ukonjugeret bilirubin (0,25 g/L)	3,31	-0,06
Albumin (58,7 g/L)	3,12	0,13
Hæmoglobin (2,9 g/L)	3,02	0,23
Endogene (urin)	Gennemsnitlig konc.	Bias
	log ₁₀ IE/mL	log ₁₀ IE/mL
Urobilirubin (> 2 mg/dL)	3,74	-0,09
Glukose (1000 mg/dL)	4,00	0,04
Urin pH 4	3,75	0,29
Urin pH 10	3,77	0,27
Leucocytter (1E5 celler/mL)	3,68	-0,06
Blod 7 %	3,42	-0,32
Protein (albumin > 100 mg/dL)	3,96	0,08
Talkumpulver	3,92	0,12
Eksogene (lægemidler)	Gennemsnitlig konc.	Bias
	log ₁₀ IE/mL	log ₁₀ IE/mL
Pool 1: Valganciclovir, Prednison, Cidofovir, Cefotaxim, Mycophenolatmofetil	4,04	-0,06
Pool 2: Vancomycin, Tacrolimus, Famotidin, Valacyclovir, Leflunomid	4,07	-0,09

Repeterbarhed og præcision i laboratoriet¹⁴

Præcisionen for NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip blev bestemt ved at teste 2 replikater af et panel med 5 elementer med BKV-prøver klargjort med BKV-plasmid to gange om dagen ved brug af ét NeuMoDx™ 96 System i 20 dage. Præcisionen inden for samme analyse og inden for samme dag blev beskrevet, og den samlede standardafvigelse blev bestemt til at være $\leq 0,30 \log_{10}$ IE/mL. Der blev konstateret fremragende præcision uanset dage eller analyser, som det er vist i *Tablet 10*. Præcisionen fra operatør til operatør blev ikke beskrevet, da operatøren ikke har nogen særlig indflydelse på behandlingen af prøver i NeuMoDx™ System.

Tablet 10: Præcision af NeuMoDx BKV Quant Assay i NeuMoDx Systems på samme laboratorium

Prøve	SD på samme dag (\log_{10} IE/mL)	SD på forskellige dage (\log_{10} IE/mL)	SD inden for samme kørsel (\log_{10} IE/mL)	SD inden for forskellige kørsler (\log_{10} IE/mL)	SD inden for laboratoriet (\log_{10} IE/mL)
Plasma-/serumprøve (550 μL input)					
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
Urinprøve					
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

Lot til lot-reproducerbarhed¹⁴

Reproducerbarheden fra lot til lot for NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip blev bestemt ved at anvende tre forskellige lot af NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips. Et BKV-panel på 5 elementer klargjort med BKV-plasmid blev anvendt til at vurdere ydeevnen på ét NeuMoDx™ 96 Molecular System på 3 separate kørsler. Variationen fra lot til lot og for alle lot blev analyseret, og resultaterne udtrykt som absolut kvantificeringsbias fra lot til lot er vist i *Tablet 11*. Maksimal samlet bias var $0,27 \log_{10}$ IE/mL. Der blev konstateret ækvivalent ydeevne i alle lot, da kvantiteringen af alle panelementer var inden for specifikationen for tolerancen.

Tablet 11: Reproducerbarhed fra lot til lot – NeuMoDx BKV Quant Assay

Prøve	Absolut bias mellem Lot.1 og Lot.2 (\log_{10} IE/mL)	Absolut bias mellem Lot.1 og Lot.3 (\log_{10} IE/mL)	Absolut bias mellem Lot.2 og Lot.3 (\log_{10} IE/mL)
Plasma-/serumprøve (550 μL)			
7 \log_{10} IE/mL	0,05	0,10	0,05
4 \log_{10} IE/mL	0,02	0,03	0,05
3 \log_{10} IE/mL	0,20	0,05	0,15
2 \log_{10} IE/mL	0,02	0,24	0,26
0 \log_{10} IE/mL	0,00	0,00	0,00
Urinprøve (550 μL)			
7 \log_{10} IE/mL	0,09	0,27	0,19
4 \log_{10} IE/mL	0,25	0,06	0,19
3 \log_{10} IE/mL	0,06	0,08	0,14
2 \log_{10} IE/mL	0,03	0,11	0,14
0 \log_{10} IE/mL	0,00	0,00	0,00

Reproducerbarhed mellem instrumenter¹⁴

Reproducerbarheden fra instrument til instrument med NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip blev bestemt ved brug af tre forskellige systemer (to NeuMoDx™ 288 Molecular System og ét NeuMoDx™ 96 Molecular System). Et panel med 5 elementer med BKV klargjort med BKV-plasmid blev anvendt til vurdering af ydeevnen. Test blev udført parallelt på systemerne i 5 dage. Variabiliteten på samme dag og mellem systemer blev beskrevet, og den samlede standardafvigelse blev bestemt til at være $\leq 0,30 \log_{10}$ IE/mL. Der blev konstateret ækvivalent ydeevne i alle systemer, da SD i kvantiteringen af alle panelementer var inden for specifikationen for tolerancen (*Tabel 12*).

Tabel 12: Reproducerbarhed mellem instrumenter – NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

Prøve	SD for repeterbarhed (log ₁₀ IE/mL)	SD på forskellige dage (log ₁₀ IE/mL)	SD på samme instrument (log ₁₀ IE/mL)	SD på forskellige instrumenter (log ₁₀ IE/mL)	SD for reproducerbarhed (log ₁₀ IE/mL)
Plasma-/serumprøve (550 µL input)					
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
Urinprøve					
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

REFERENCER

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.

VAREMÆRKER















NeuMoDx™ er et varemærke, der tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® er et registreret varemærke, der tilhører Roche Molecular Systems, Inc.

STAT-NAT® er et registreret varemærke tilhørende SENTINEL CH. S.p.A.

Alle andre produktnavne, varemærker og registrerede varemærker, der eventuelt vises i dette dokument, tilhører deres respektive ejere.

SYMBOLER

SYMBOL	BETYDNING
	Receptpligtig
	Producent
	Leverandør
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinsk udstyr
	Katalognummer
	Batchkode
	Læs brugsanvisningen
	Forsigtig: Læs de medfølgende dokumenter
	Temperaturbegrænsning
	Opbevares tørt
	Må ikke genbruges
	Må ikke udsættes for sollys
	Indholdet er tilstrækkeligt til $<n>$ tests
	Holdbarhedsdato



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

Indberetning af bivirkninger og uønskede hændelser:
www.neumodx.com/contact-us

Patent: www.neumodx.com/patents