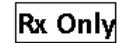




201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip



POZOR: Samo za izvoz v ZDA



Za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemi NeuMoDx™ 288 in NeuMoDx™ 96 Molecular Systems



Pred uporabo izdelka pozorno preberite ta navodila. Navodila ustrezno upoštevajte.

V primeru kakršnih koli odstopanj od teh navodil ni mogoče zagotoviti, da bodo rezultati testa verodostojni.

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo NeuMoDx™ 288 Molecular System; št. dela 40600108

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo NeuMoDx™ 96 Molecular System; št. dela 40600317



NAMEN UPORABE

Test NeuMoDx™ BKV Quant Assay je avtomatski test amplifikacije nukleinske kisline *in vitro*, ki se uporablja za identifikacijo in kvantifikacijo DNK virusa BK (BK Virus, BKV) v vzorcih, ekstrahiranih iz človeške plazme/seruma in urina. Test NeuMoDx BKV Assay, implementiran v sisteme NeuMoDx™ 288 Molecular System in NeuMoDx™ 96 Molecular System (sistem(-i) NeuMoDx™ System), vključuje avtomatsko ekstrakcijo DNK za izolacijo ciljne nukleinske kisline iz primerka ter verižno reakcijo polimeraze v realnem času (Polymerase Chain Reaction, PCR) za ciljno ciljanje sekvenc v genomu BKV.

Test NeuMoDx BKV Quant Assay je namenjen za pomoč pri diagnosticiranju in spremljanju okužbe z virusom BK v kombinaciji z drugimi kliničnimi in laboratorijskimi ugotovitvami.

POVZETEK IN RAZLAGA

Za pripravo plazme se lahko uporabi človeška polna kri, odvzeta v sterilne epruvete za zbiranje krvi, ki vsebujejo antikoagulant EDTA, ali v epruvete za pripravo plazme (Plasma Preparation Tubes, PPT), medtem ko je treba serum zbrati v epruvete za zbiranje seruma ali epruvete za ločevanje seruma (Serum Separation Tube, SST). Za testiranje primerka urina se vzorec zbere v standardno posodico za zbiranje urina, ki ne vsebuje konzervansov ali aditivov. Med pripravo na testiranje se za začetek avtomatske obdelave plazma/serum ali urin v primarni ali sekundarni epruveti s primerkom, združljivi s sistemom NeuMoDx™ System, naloži v sistem NeuMoDx™ System z uporabo namenskega prenosnika za epruvete s primerki. Za primerke plazme/seruma se 550 µl alikvota vzorca zmeša s pufrom NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 iz instrumenta oziroma 100 µl alikvota vzorca plazme/vzorca seruma s pufrom NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. Za vzorce urina se 550 µl alikvota vzorca zmeša s pufrom NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 iz instrumenta. Sistem NeuMoDx™ System samodejno izvede vse korake, ki so potrebni za ekstrakcijo ciljne nukleinske kisline, pripravi izolirano DNK za amplifikacijo PCR v realnem času in amplificira ter zazna produkte amplifikacije, če so prisotni. Test NeuMoDx™ BKV Quant Assay vključuje kontrolo obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) z DNK, ki pomaga nadzorovati prisotnost potencialno inhibitornih snovi ter napak sistema NeuMoDx™ System ali reagenta, ki se lahko pojavijo med postopkom ekstrakcije in amplifikacije.

Poliomavirus BK (BK Polyomavirus, BKV) spada v družino virusov Polyomaviridae z dvoverižno DNK (double-stranded DNA, dsDNA). BKV povzroča pogosto okužbo pri otrocih brez hujših kliničnih posledic, poleg tega pa je na BKV seropozitivnih >80 % odraslih.¹ Primarna okužba s tem virusom z dsDNA je običajno asimptomatska in se pojavi v otroštvu. Kadar so prisotni simptomi, ti najpogosteje vključujejo zvišano telesno temperaturo in nespecifično okužbo zgornjih dihal.² Po primarni okužbi lahko virus ostane latentno skrit na številnih mestih, zlasti v ledvicah. Do prenosa lahko pride ob izpostavljenosti telesnim tekočinam. V primeru relativne ali absolutne celične imunske pomanjkljivosti se virus lahko ponovno aktivira in povzroči bolezen.²

Kvantifikacija virusnega bremena v plazmi/serumu in urinu na podlagi PCR je standardno klinično orodje za spremljanje ponovne aktivacije BKV. Študije, v katerih so poročali o kvantitativnih rezultatih PCR za BKV, kažejo pozitivno povezavo med večjimi virusnimi bremenami in večjo verjetnostjo za razvoj nefropatije, povezane z BKV (BKV-Associated Nephropathy, BKVAN)¹. Drugo klinično orodje, ki se uporablja za opis skupkov BKV v urinu, je elektronska mikroskopija, ki prikaže tridimenzionalne skupke BKV. Vendar pa testa zaradi stroškov in omejene dostopnosti elektronske mikroskopije ni mogoče uporabljati v rutinski klinični praksi.¹

NAČELA POSTOPKA

Test NeuMoDx™ BKV Quant Assay na sistemu NeuMoDx™ System za izvedbo analize uporablja 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 in reagente NeuMoDx™ za splošno uporabo. Reagente je treba shranjevati pri temperaturi od +15 do +30 °C.

Test NeuMoDx™ BKV Quant Assay združuje avtomatsko ekstrakcijo, amplifikacijo in zaznavanje DNK s PCR v realnem času. Primerki plazme/seruma ali urina v primarnih ali sekundarnih epruvetah s primerkom, združljivih s sistemom NeuMoDx™ System, se postavijo na prenosnik za epruvete s primerki, ki se nato naloži v sistem NeuMoDx™ System za obdelavo. Dodatno posredovanje upravljavca ni potrebno.

Sistemi NeuMoDx™ System za samodejno izvajanje lize celic, ekstrakcijo DNK in odstranjevanje inhibitorjev uporabljajo kombinacijo toplote, litičnih encimov in ekstrakcijskih reagentov. Sproščene nukleinske kisline ujamejo paramagnetni delci. Delci z vezanimi nukleinskimi kisljinami se naložijo v kartušo NeuMoDx™ Cartridge, kjer se nevezane komponente brez DNK dodatno sperejo z reagentom NeuMoDx™ Wash Reagent, vezana DNK pa se izluči z reagentom NeuMoDx™ Release Reagent. Sistemi NeuMoDx™ System nato uporabijo izluženo DNK za rehidracijo lastniških liofiliziranih amplifikacijskih reagentov Sentinel CH (tehnologija STAT-NAT™), ki vsebujejo vse potrebne elemente za PCR-amplifikacijo ciljev, specifičnih za BKV in SPC1. Pri rekonstituciji liofiliziranih reagentov PCR sistem NeuMoDx™ System izvrže za PCR pripravljeno mešanico v kartušo NeuMoDx™ Cartridge. Amplifikacija in zaznavanje kontrole in ciljnih sekvenc DNK (če so prisotne) se izvedeta v območju komore PCR kartuše NeuMoDx™ Cartridge. Kartuša NeuMoDx™ Cartridge je zasnovana tako, da po PCR v realnem času vsebuje ampikon, tako da praktično ni tveganja za kontaminacijo po amplifikaciji.

Amplificirane tarče so zaznane v realnem času z uporabo kemije hidrolizne šobe (ki jo imenujemo tudi kemija TaqMan®) z uporabo fluorogenih oligonukleotidnih molekul šobe, specifičnih za amplikone za njihove določene tarče.

Šobe TaqMan® so sestavljene iz fluorofora, ki je kovalentno vezan na 5'-del oligonukleotidne šobe in dušilec na 3'-delu. Medtem ko je šoba nedotaknjena, sta fluorofor in dušilec blizu, zato molekula dušilca zaduši fluorescenco, ki jo fluorofor oddaja prek Försterjevega resonančnega prenosa energije (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Šobe TaqMan® so zasnovane tako, da se združijo znotraj regije DNK, ki jo amplificira specifični komplet primerjev. Ko polimeraza DNK Taq razširi primer in sintetizira nov trak, aktivnost eksonukleaze 5' do 3' polimeraze DNK Taq degradira šobo, ki se je prilegla v vzorec. Degradacija šobe sprosti fluorofor in zlomi bližino dušilca ter tako premaga učinek dušenja zaradi FRET ter omogoči zaznavanje fluorescenca fluorofora. Posledični fluorescenčni signal, zaznan v kvantitativnem PCR-termopomnoževalniku sistema NeuMoDx™ System je neposredno proporcionalen s sproščenim fluoroforom in možno je vzpostaviti korelacijo s količino prisotne ciljne DNK.³

Šobe TaqMan®, označene s fluorofori na 5'-koncu in dušilci na 3'-koncu, se uporabijo za zaznavanje DNK BKV in DNK SPC1. Programska oprema sistema NeuMoDx™ System nadzoruje fluorescentni signal, ki ga oddajajo šobe TaqMan na koncu vsakega amplifikacijskega cikla. Ko je amplifikacija končana, programska oprema NeuMoDx™ System analizira podatke in sporoči končni rezultat (POSITIVE (POZITIVNO)/NEGATIVE (NEGATIVNO)/INDETERMINATE (NEDOLOČEN)/UNRESOLVED (NEREŠENO)/NO RESULT (NI REZULTATA)). Če je rezultat pozitiven in izračunana koncentracija v mejah kvantifikacije, programska oprema NeuMoDx System prikaže tudi kvantitativno vrednost, povezano z vzorcem.

REAGENTI/POTROŠNI MATERIAL

Potrebni material

| REF | Vsebina | Enote na paket | Testi na enoto | Testi na paket |
|--------|--|----------------|----------------|----------------|
| 201800 | NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip <i>Liofilizirani reagenti PCR, ki vsebujejo BKV-specifične šobe in primerje TaqMan®, poleg SPC1-specifičnih sond in primerjev TaqMan®.</i> | 6 | 16 | 96 |

Potrebni reagenti in potrošni material, ki niso priloženi (na voljo ločeno pri družbi NeuMoDx)

| REF | Vsebina |
|--------|--|
| 100200 | NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Posušeni paramagnetni delci, litični encim in kontrole obdelave vzorca</i> |
| 800600 | NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit <i>Kompleti visokih in nizkih posušeni kalibratorjev za BKV za enkratno uporabo za določanje veljavnosti standardne krivulje</i> |
| 900601 | NeuMoDx™ BKV External Control Kit <i>Kompleti pozitivnih posušeni kontrol in negativnih kontrol za BKV za enkratno uporabo za določanje dnevne veljavnosti testa 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 | Konice Hamilton CO-RE (300 µl) s filtri |
| 235905 | Konice Hamilton CO-RE (1000 µl) s filtri |

Potrebni instrumenti

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

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip je namenjen samo diagnostični uporabi *in vitro* s sistemi NeuMoDx™ System.
- Preden izvedete test, preberite vsa navodila, ki so priložena kompletu.
- Reagentov oziroma potrošnega materiala ne uporabljajte po navedenem roku uporabe.
- Ne uporabljajte reagentov, če je varnostno tesnilo odprto oziroma če je embalaža ob prejemu poškodovana.

- Ne uporabljajte potrošnega materiala ali reagentov, če je zaščitna vrečka ob prejemu odprta ali poškodovana.
- Ne mešajte reagentov za amplifikacijo iz drugih kompletov, ki so na trgu.
- Ne uporabljajte ponovno.
- Vse testne trakove NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip shranjujte v njihovi aluminijasti ovojnini, da jih zaščitite pred svetlobo in vlago.
- Veljavna kalibracija testa (ki se ustvari z obdelavo visokih in nizkih kalibratorjev NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, REF 800600) mora biti na voljo, preden se lahko ustvarijo rezultati testa za klinične vzorce.
- Zunanje kontrole NeuMoDx™ BKV External Control Kit (REF 900601) je med testiranjem s testom NeuMoDx™ BKV Quant Assay treba obdelati vsakih 24 ur.
- Minimalni volumen primerka je odvisen od velikosti epruvete, prenosnika za primerke in poteka dela za volumen primerka, kot je določeno spodaj. Če je volumen pod navedenim minimumom, se lahko pojavi napaka »Quantity Not Sufficient« (Količina ni zadostna).
- Izvedba testa za BKV na primerkih, shranjenih pri neprimerni temperaturi oziroma po preteku obdobja za shranjevanje, lahko pri uporabi testnih trakov NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip privede do neveljavnih ali napačnih rezultatov.
- Preprečite kontaminacijo katerega koli reagenta in potrošnega materiala z mikrobi ali dezoksiribonukleazo (Dnaza). Pri uporabi sekundarnih epruvet za primerke je priporočena uporaba sterilnih pipet za prenos brez Dnaze. Za vsak primerke uporabite novo pipeto.
- Da se izognete kontaminaciji, kartuše NeuMoDx™ Cartridge po amplifikaciji ne prijemajte ali razstavlajte. Kartuš NeuMoDx™ Cartridge v nobenem primeru ne odstranjujte iz zabojnikov za biološko nevarne odpadke (NeuMoDx™ 288 Molecular System) ali koša za biološke odpadke (NeuMoDx™ 96 Molecular System). Kartuša NeuMoDx™ Cartridge je zasnovana tako, da preprečuje kontaminacijo.
- V primerih, ko laboratorij izvaja tudi teste PCR z odprtimi epruvetami, je treba zagotoviti, da testni trakovi NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, dodatni potrošni material in reagenti, potrebni za testiranje, osebna zaščitna oprema, kot so rokavice in laboratorijski plašči, ter NeuMoDx™ System niso kontaminirani.
- Pri ravnanju z reagenti in potrošnim materialom NeuMoDx™ uporabljajte čiste nitrilne rokavice brez praška. Bodite previdni, da se ne dotaknete zgornje površine kartuše NeuMoDx™ Cartridge, površine tesnilne folije testnega traku NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ali ekstrakcijske plošče NeuMoDx™ Extraction Plate oziroma zgornje površine vsebnikov s pufri NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 in 5; s potrošnim materialom in reagenti rokujte tako, da se dotikate samo stranskih površin.
- Varnostni listi (Safety Data Sheets, SDS) za vse reagente (če so potrebni) so na voljo na www.neumodx.com/client-resources.
- V navpični vrstici ob robu besedila so navedene spremembe v primerjavi s prejšnjo različico navodil za uporabo.
- Po izvedbi testa si temeljito umijte roke.
- Pipete ne uporabljajte z usti. Ne kadite, pijte ali jejte v območjih, kjer ravnate s primerki ali reagenti.
- S primerki vedno ravnajte, kot da so kužni, in v skladu z varnimi postopki v laboratorijih, kot so tisti, ki so opisani v dokumentu OSHA Standard on Bloodborne Pathogens⁴, Biosafety Level 2⁵ (Standard OSHA za patogene, ki se prenašajo s krvjo, raven biološke varnosti 2), ali uporabite druge ustrezne prakse za biološko varnost^{6,7} za materiale, ki vsebujejo ali bi lahko vsebovali kužne snovi.
- Neuporabljene reagente in odpadke odstranite v skladu z državnimi, zveznimi, okrajnimi in lokalnimi predpisi.
- Rezultate testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay je treba interpretirati v kombinaciji z drugimi kliničnimi in laboratorijskimi ugotovitvami.
- Tako kot pri drugih testih negativni rezultati ne pomenijo, da je okužba z BKV izključena.

SHRANJEVANJE, RAVNANJE IN STABILNOST IZDELKA

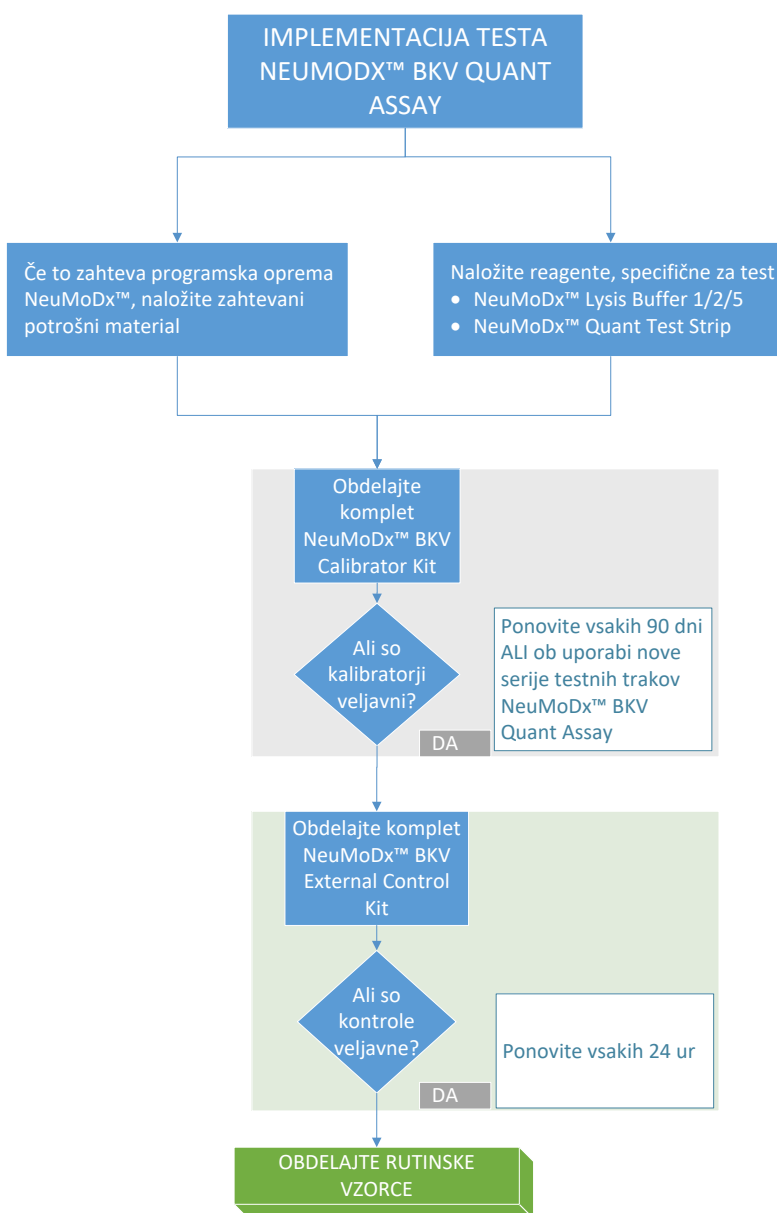
- Testni trakovi NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip so stabilni v prvotni embalaži pri temperaturi od 15 do 30 °C do roka uporabnosti, ki je naveden na oznaki izdelka.
- Testni trak NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, naložen v sistem NeuMoDx™ System, je stabilen 32 dni; programska oprema sistema NeuMoDx™ System bo zahtevala odstranitev testnih trakov, ki so bili v sistemu NeuMoDx™ System v uporabi več kot 32 dni, in treba bo odpreti (vzeti iz vrečke) nove testne trakove NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ter jih naložiti v sistem NeuMoDx System. Med nalaganjem v sistem NeuMoDx System s traku ne smete odstraniti aluminijaste folije.
- Kalibratorji in kontrole NeuMoDx™ niso kužni, vendar jih je po uporabi treba v laboratoriju zavreči med biološko nevarne odpadke, saj po obdelavi v sistemu vsebujejo ciljni material, kar lahko v primeru neustreznega ravnanja povzroči kontaminacijo.

ZBIRANJE, TRANSPORT IN SHRANJEVANJE PRIMERKOV

1. Z vsemi primerki ravnajte, kot da lahko prenašajo povzročitelje okužb.
2. V primarnih epruvetah ne zamrzujte polne krvi ali primerkov plazme/seruma.
3. Za pripravo primerkov plazme je treba zbrati polno kri v sterilne epruvete z antikoagulantom EDTA. Primerke seruma je potrebno pripraviti v epruvetah za ločevanje seruma. Vzorce urina je treba zbrati v sterilne epruvete ali posodice. Upoštevajte navodila proizvajalca epruvet za zbiranje primerkov.
4. Polna kri, zbrana v zgoraj navedenih napravah, se lahko shrani in/ali prevaža do 24 ur pri temperaturi 2 °C do 8°C pred pripravo plazme/seruma. Pripravo vzorcev je treba izvesti v skladu z navodili proizvajalca.
5. Shranjevanje svežega neobdelanega urina na sobni temperaturi je treba omejiti na čim krajši čas, saj nizek pH in visoka vsebnost sečnine hitro denaturirata DNK, zlasti pri temperaturi 25 °C in več.

6. Pripravljene primerke plazme/seruma in urina se lahko v sistemu NeuMoDx™ shranjujejo do 24 ur pred obdelavo. Če je potreben dodaten čas shranjevanja, priporočamo, da se primerki shranijo v hladilniku ali zamrznejo kot sekundarni alikvoti.
7. Pripravljene primerke plazme/seruma in urina naj bodo shranjeni pri temperaturi 2 do 8 °C in ne dlje kot 8 dni pred testiranjem ter največ 24 ur pri sobni temperaturi.
8. Pripravljene primerke je pred obdelavo možno shraniti pri < -20 °C do 8 tednov, če gre za plazmo, in 2 tedna, če gre za serum; tako vzorci plazme kot seruma pred uporabo ne smejo biti podvrženi več kot 2 ciklom zamrzovanja/odtavanja:
 - a. Če so vzorci zamrznjeni, se morajo najprej popolnoma odtaliti pri sobni temperaturi (15–30 °C); zmešajte jih z vibracijskim mešalnikom, da ustvarite enakomerno porazdeljen vzorec.
 - b. Ko so zamrznjeni vzorci odtajani, je testiranje potrebno izvesti v roku 24 ur.
 - c. Zamrzovanje plazme/seruma v primarnih epruvetah za zbiranje ni priporočljivo.
9. Po obdelavi lahko vzorce urina shranjujete pri temperaturi od 2 do 8 °C.
10. Če bodo primerki poslani, jih je treba zapakirati in označiti v skladu z veljavnimi državnimi in/ali mednarodnimi predpisi.
11. Primerke jasno označite in navedite, da so namenjeni za testiranje za BKV.
12. Nadaljujte na razdelek *Priprava testa*.

Celotni postopek za implementacijo testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay je povzet na *Slika 1*.



Slika 1: Potek dela pri implementaciji testa NeuMoDx BKV Quant Assay

NAVODILA ZA UPORABO

Priprava testa

Za vzorce plazme/seruma se test NeuMoDx BKV Quant Assay lahko izvaja neposredno iz primarnih epruvet za zbiranje krvi ali iz alikvotov primerkov iz sekundarnih epruvet. Obdelavo je mogoče izvesti z uporabo enega od dveh potekov dela za obdelavo volumna primerka – poteka dela za primerek z volumnom 550 µl ali poteka dela za obdelavo primerka z volumnom 100 µl. Vzorci urina se lahko obdelajo le s potekom dela za volumen primerka 550 µl.

1. Primerk z oznako s črtno kodo dodajte na epruveto s primerkom, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx™ System. Primarno epruveto za zbiranje krvi je mogoče po centrifugiranju označiti in jo postaviti neposredno v prenosnik za 32 epruvet s primerki v skladu z navodili proizvajalca.
2. Če se testiranje primerka plazme/seruma izvaja v primarni epruveti za zbiranje, postavite epruveto, označeno s črtno kodo, v prenosnik za epruvete s primerki in poskrbite, da bo pred nalaganjem v NeuMoDx System odstranjen pokrov. Najmanjši volumni **nad** slojem gela/mehkim slojem so opredeljeni spodaj in bodo doseženi, če bodo primerki zbrani in obdelani v skladu z navodili proizvajalca epruvete. Učinkovitost ni zajamčena za primerke, ki so bili nepravilno zbrani.

| Zbiranje krvi Vrsta cevi | Minimalni zahtevani volumen primerka | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|----------------------|
| | Potek dela za 550 µl | Potek dela za 100 µl |
| 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. Če imate vzorce urina ali plazme/seruma v sekundarni epruveti, alikvot primerka prenesite v epruveto s primerkom s črtno kodo, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System, v skladu s spodaj določenimi volumni:

| Prenosnik za epruvete s primerki | Velikost epruvete | Minimalni zahtevani volumen primerka | |
|--|--|--------------------------------------|--|
| | | Potek dela za 550 µl | Potek dela za 100 µl (samo za plazmo/serum) |
| 32-Tube Specimen Tube Carrier (Prenosnik za epruvete s primerki z 32 epruvetami) | Premer 11–14 mm in višina 60–120 mm | 700 µl | 350 µl |
| 24-Tube Specimen Tube Carrier (Prenosnik za epruvete s primerki s 24 epruvetami) | Premer 14,5–18 mm in višina 60–120 mm | 1100 µl | 750 µl |
| Low Volume Specimen Tube Carrier (Prenosnik za epruvete s primerki za nizki volumen) | 1,5-ml epruveta s stožčastim dnom za mikrocentrifugo | 650 µl | 250 µl |

Delovanje sistema NeuMoDx System

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo NeuMoDx™ 288 in 96 Molecular System (št. dela 40600108 in 40600317)

1. Naložite naročilo testa v sistem NeuMoDx System v skladu z zelenim tipom primerka in epruvete:
 - Primerk z volumnom 550 µl se testira z opredelitvijo tipa primerka kot »Plasma« (Plazma), »Serum« ali »Urine« (Urin)
 - Primerk z volumnom 100 µl se testira z opredelitvijo tipa primerka kot »Plasma2« (Plazma2) ali »Serum2«
 - Če to v naročilu testa ni opredeljeno, bo privzeto uporabljen tip primerka **Plasma** (Plazma) v epruveti **Secondary Tube** (Sekundarna epruveta).
2. Odrežite aluminijaste vrečke s trakovi NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip na mestu, kjer sta stranski zarezji.
3. Trakove vzemite iz vrečk tik pred uporabo.
4. Preden uporabite vrečke, se vedno prepričajte, da so dobro zaprte in da še vedno vsebujejo sušilo. Uporabite jih le, če so nepoškodovane.
5. Če se barva vrečice s sušilom spremeni iz oranžne v zeleno, aluminijaste vrečke in njihovo vsebino zavrzite.

6. Enega ali več prenosnikov testnih trakov za sistem NeuMoDx™ System Test Strip Carrier napolnite s testnimi trakovi NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip in uporabite zaslon na dotik, da naložite prenosnike testnih trakov v NeuMoDx™ System.
7. Če to zahteva programska oprema NeuMoDx™ System, dodajte potrebno količino potrošnega materiala v vsebnike potrošnega materiala NeuMoDx™ System in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik(e) naložite v NeuMoDx™ System.
8. Če to zahteva programska oprema NeuMoDx™ System, zamenjajte NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, spraznite odpadke pri polnjenju, zabojsnik za biološko nevarne odpadke (samo pri NeuMoDx 288 Molecular System), koš za odpadne konice (samo NeuMoDx 96 Molecular System) ali koš za biološko nevarne odpadke (samo NeuMoDx 96 Molecular System), kot je to potrebno.
9. Če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx™ System, obdelajte Calibrators (REF 800600) in/ali External Controls (REF 900601), kot je potrebno. Dodatne informacije glede kalibratorjev in kontrol so na voljo v razdelku *Obdelava rezultatov*.
10. Epruveto(-e) s primerkom/kalibratorjem/kontrolo naložite v standardne prenosnike za 32 epruvet in poskrbite, da so pokrovi odstranjeni z vseh epruvet.
11. Prenosnik za epruvete s primerki postavite na katerokoli prosto mesto na polici samodejnega nalagalnika in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik naložite v NeuMoDx™ System. To bo sprožilo obdelavo naloženih primerkov za opredeljen(-e) test(-e), če je v sistemu veljavno naročilo testa.

OMEJITVE

- Testni trak NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip se lahko uporablja samo na sistemih NeuMoDx™ Systems.
- Delovanje testnega traku NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip je bilo opredeljeno za primerke plazme in seruma, pripravljene iz odvzete polne krvi z antikoagulantom EDTA, in za primerke urina; uporaba testnih trakov NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip z drugimi tipi kliničnih primerkov ni bila ocenjena, zato karakteristike delovanja tega testa za druge tipe primerkov niso znane.
- Pri uporabi poteka dela za primerek z volumnom 100 µl so opazili majhno povišanje meje zaznavanja in spodnje meje kvantifikacije testa NeuMoDx BKV Quant Assay.
- Test NeuMoDx BKV Quant Assay se ne sme uporabljati z vzorci hepariniziranih ljudi.
- Ker je zaznavanje BKV odvisno od števila prisotnih organizmov v vzorcu, so zanesljivi rezultati odvisni od ustreznega zbiranja, ravnanja in shranjevanja primerkov.
- Kalibratorji in zunanje kontrole morajo biti obdelani v skladu s priporočili v priloženih navodilih in pred obdelavo rutinskih kliničnih vzorcev, če to zahteva programska oprema NeuMoDx™ System.
- Napačni rezultati se lahko pojavijo zaradi nepravilnega zbiranja, ravnanja, shranjevanja primerkov, tehnične napake ali zamenjave epruvet s primerkom. Poleg tega se lahko pojavijo lažno negativni rezultati, če je število virusnih delcev v vzorcu pod mejo zaznavanja testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- Upravljanje sistema NeuMoDx™ System je omejeno na osebe, usposobljene za uporabo sistema NeuMoDx™ System.
- Če se tako cilj BKV kot cilj SPC1 ne amplificirata, bodo sporočeni neveljavni rezultati (Indeterminate (Nedoločen), No Result (Ni rezultata) ali Unresolved (Nerešeno)), zato bo test treba ponoviti.
- Če je rezultat testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay pozitiven, kvantifikacijska vrednost pa je zunaj meje kvantifikacije, bo NeuMoDx™ System javil, ali je bil zaznani BKV pod spodnjo mejo kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ali nad zgornjo mejo kvantifikacije (Upper Limit of Quantification, ULoQ).
- Če je bil zaznani BKV pod spodnjo mejo kvantifikacije (Lower Limit of Quantification, LLoQ), je možno kvant. test NeuMoDx™ BKV Quant Assay ponoviti (po želji) z drugim alikvotom primerka.
- V primeru, da je zaznani BKV nad zgornjo mejo kvantifikacije (Upper Limit of Quantification, ULoQ), je možno kvant. test NeuMoDx™ BKV Quant Assay ponoviti z razredčenim alikvotom prvotnega primerka. Priporočena je redčitev v razmerju 1:1000 v BKV-negativni plazmi ali redčilu BaseMatrix 53 Diluent (BaseMatrix) (SeraCare, Milford, MA). Koncentracijo prvotnega primerka je možno izračunati po naslednjem postopku:

$$\text{Koncentracija prvotnega primerka} = \log_{10}(\text{faktor redčenja}) + \text{dobljena koncentracija razredčenega vzorca}.$$
- Občasna prisotnost inhibitorjev PCR v plazmi/serumu ali urinu lahko privede do napake kvantifikacije sistema; v tem primeru je priporočljiva ponovitev testa z enakim primerkom, razredčenim v BaseMatrix v razmerju 1 : 10 ali 1 : 100.
- Pozitivni rezultat ne pomeni nujno prisotnosti živih organizmov. Vseeno pa pozitiven rezultat predvideva prisotnost DNK BKV.
- Delecija ali mutacije v ohranjenih regijah, ki so cilji testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay, lahko vplivajo na zaznavo ali privedejo do napačnih rezultatov pri uporabi testnih trakov NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Rezultati testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay se morajo uporabljati kot dodatek kliničnim ugotovitvam in drugim podatkom, ki so na voljo zdravniku; test ni namenjen diagnozi okužbe.
- Priporočene so dobre laboratorijske prakse, vključno z menjavo rokavic med ravnanjem s primerki pacientov, da preprečite kontaminacijo.

OBDELAVA REZULTATOV

Razpoložljive rezultate si je možno ogledati oziroma natisniti na zavihku »Results« (Rezultati) okna Results (Rezultati) na zaslonu na dotik NeuMoDx™ System.

Rezultate testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay samodejno ustvari programska oprema NeuMoDx™ System z uporabo algoritma za odločanje in parametrov za obdelavo rezultatov, navedenih v definicijski datoteki testa NeuMoDx™ BKV (BKV Assay Definition File, ADF). Rezultat testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay je lahko Negative (Negativen), Positive (Pozitiven) s sporočeno koncentracijo BKV, Positive (Pozitiven) nad ULoQ, Positive (Pozitiven) pod LLoQ, Indeterminate (Nedoločen) (IND), Unresolved (Nerešeno) (UNR) ali No Result (Ni rezultata) (NR) na podlagi statusa amplifikacije cilja in kontrole obdelave vzorca. Rezultati se poročajo na podlagi algoritma za odločanje, ki je opisan spodaj v Preglednica 1.

Preglednica 1: Povzetek algoritma za odločanje pri testu NeuMoDx BKV Quant Assay

| Rezultat | BKV | Kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) | Interpretacija rezultatov |
|--|---|---|--|
| Positive (Pozitiven) s prijavljeno koncentracijo | Amplified (Amplificirano) 1,3 ≤ [BKV] ≤ 8,0 log ₁₀ IE/ml (potek dela za 550 µl)* 2,3 ≤ [BKV] ≤ 8,0 log ₁₀ IE/ml (potek dela za 100 µl)* | Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano) | DNK BKV zaznana v kvantitativnem območju |
| Positive (Pozitivno), nad zgornjo mejo kvantifikacije [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] | Amplified (Amplificirano) [BKV] > 8,0 log ₁₀ IE/ml | Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano) | DNK BKV zaznana nad kvantitativnim območjem |
| Positive (Pozitivno), pod spodnjo mejo kvantifikacije [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] | Amplified (Amplificirano) [BKV] < 1,3 log ₁₀ IE/ml (potek dela za 550 µl)* [BKV] < 2,3 log ₁₀ IE/ml (potek dela za 100 µl)* | Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano) | DNK BKV zaznana pod kvantitativnim območjem |
| Negative (Negativno) | Not Amplified (Ni amplificirano) | Amplified (Amplificirano) | DNK BKV ni bila zaznana |
| Indeterminate (Nedoločen) | Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca končana) | | Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec |
| No Result (Ni rezultata) | Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca prekinjena) | | Obdelava vzorca je bila prekinjena; ponovno preskusite vzorec |
| Unresolved (Nerešeno) | Not Amplified, No System Error Detected (Ni amplificirano, Ni zaznane napake sistema) | | Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec |

*Potek dela za 550 µl se uporablja s primerki plazme/seruma in urina. Potek dela za 100 µl se uporablja le s primerki plazme/seruma.

†Sistem NeuMoDx System je opremljen s samodejno funkcijo Rerun (Ponovni zagon)/Repeat (Ponoviti), ki jo lahko končni uporabnik izbere za zagotovitev, da se rezultat IND (Nedoločen)/NR (Ni rezultata)/UNR (Nerešeno) samodejno ponovno obdela, da se zmanjšajo zamude pri poročanju o rezultatih.

Testna kalkulacija

- Za vzorce znotraj obsega kvantifikacije testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay je koncentracija DNK BKV v vzorcih izračunana z uporabo shranjene standardne krivulje, skupaj s koeficientom kalibracije in volumnom primerka.
 - Koeficient kalibracije je izračunan na podlagi rezultatov kompleta NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, ki so bili obdelani za določitev veljavnosti standardne krivulje, za posebno serijo testnega traku NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, na specifičnem sistemu NeuMoDx™ System.
 - Koeficient kalibracije se vključi v končno določitev koncentracije DNK BKV.
 - Programska oprema NeuMoDx upošteva vhodni volumen primerka pri določanju koncentracije DNK BKV na ml primerka.
- Rezultati testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay so izraženi v log₁₀ IE/ml.
- Posledična kvantifikacija neznanih vzorcev je sledljiva do 1. Mednarodnega standarda WHO za virus BK (BK Virus, BKV) (14/212)⁹.

Testna kalibracija

Za kvantifikacijo DNK BKV v primerkih je potrebna veljavna kalibracija, ki temelji na standardni krivulji. Za ustvarjanje veljavnih rezultatov je potrebno dokončati testno kalibracijo z uporabo kalibratorjev, ki jih zagotavlja družba NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Kalibratorji

1. Kalibratorji NeuMoDx™ BKV Calibrators so na voljo v kompletu (REF 800600) in so sestavljeni iz posušene usedline sintetične DNK BKV.
2. Komplet kalibratorjev BKV je potrebno obdelati z vsako novo serijo testnih trakov NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, če je v NeuMoDx™ System naložena nova definicijska datoteka testa BKV, če je trenutnemu kompletu kalibratorjev potekel rok veljavnosti (trenutno nastavljen na 90 dni) ali če je bila programska oprema NeuMoDx™ System spremenjena.
3. Programska oprema NeuMoDx™ System bo uporabnika obvestila, ko bo kalibratorje treba potrebno obdelati; nova serija testnih trakov ne more biti uporabljena za testiranje, dokler niso bili kalibratorji uspešno obdelani.
4. Če je treba obdelati nov komplet kalibratorjev BKV, preberite vsa navodila, priložena kompletu NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, preden izvedete test.
5. Veljavnost kalibracije je določena po spodnjem postopku:
 - a) Za določanje veljavnosti mora biti obdelan komplet dveh kalibratorjev – visokega in nizkega.
 - b) Za ustvarjanje veljavnih rezultatov morata vsaj 2 od 3 ponovljenih vzorcev prikazati rezultate znotraj vnaprej določenih parametrov. Nazivni cilj nizkega kalibratorja je $3 \log_{10}$ IE/ml in nazivni cilj visokega kalibratorja je $5 \log_{10}$ IE/ml.
 - c) Koeficient kalibracije se izračuna za upoštevanje pričakovane variacije med serijami testnih trakov; ta koeficient kalibracije se uporabi pri določanju končne koncentracije BKV.
6. Če sta en ali oba kalibratorja neuspešna pri preverjanju veljavnosti, ponovite obdelavo neuspešnega kalibratorja/neuspešnih kalibratorjev z novo vialo. Če en kalibrator ne preneha preverjanja veljavnosti, je možno ponovno obdelati samo neuspešen kalibrator, saj sistem od uporabnika ne zahteva ponovne obdelave obeh kalibratorjev.

Kontrola kakovosti

Lokalne uredbe običajno določajo, da je laboratorij odgovoren za postopke nadzora, s katerimi sta spremljani točnost in natančnost celotnega analitičnega procesa, ter da mora za nespremenjen in odobren testni sistem vzpostaviti število, tip in pogostost testiranja kontrolnih materialov s preverjenimi specifikacijami izvedbe.

Zunanje kontrole

1. Zunanje kontrole BKV zagotavlja družba NeuMoDx Molecular, Inc. v kompletu BKV External Control Kit (REF900601). Pozitivne kontrole vsebujejo posušeno usedlino sintetične DNK BKV.
2. Pozitivne in negativne zunanje kontrole je potrebno obdelati enkrat na 24 ur. Če komplet veljavnih zunanjih kontrol ne obstaja, bo programska oprema NeuMoDx™ System od uporabnika zahtevala, da te kontrole obdelata, preden bo lahko pripravil rezultate vzorca.
3. Če so potrebne zunanje kontrole, pred izvedbo testa pripravite pozitivne in negativne kontrole v skladu z navodili, ki so priložena kompletu NeuMoDx BKV External Control Kit.
4. Ko je prenosnik za epruvete s primerki postavljen na polico samodejnega nalagalnika, z uporabo zaslona na dotik naložite vialo s pozitivnimi in negativnimi kontrolami v sistem NeuMoDx™ System. NeuMoDx™ System bo prepoznal črtno kodo in začel z obdelavo epruvete s primerki, razen če reagenti ali potrošni materiali, potrebni za testiranje, niso na voljo.
5. Veljavnost zunanjih kontrol sistem NeuMoDx™ System oceni na podlagi pričakovanega rezultata. Pozitivna kontrola bi morala prikazati rezultat Positive (Pozitivno) za BKV in negativna kontrola bi morala prikazati rezultat Negative (Negativno) za BKV.
6. Ravnanje z odstopajočimi rezultati glede zunanjih kontrol je sledeče:
 - a) Positive (Pozitiven) rezultat testa pri negativnem kontrolnem vzorcu nakazuje težavo s kontaminacijo primerka.
 - b) Negative (Negativen) rezultat testa za pozitivni kontrolni vzorec lahko prikazuje težavo z reagentom ali instrumentom.
 - c) V katerem koli od zgornjih primerov ali v primeru rezultata Indeterminate (Nedoločen) (IND) ali No Result (Ni rezultata) (NR) ponovno obdelajte neuspešno(-e) zunanjo(-e) kontrolo(-e) NeuMoDx™ BKV z novo vialo kontrol, ki niso prestale testa veljavnosti.
 - d) Če pozitivna zunanja kontrola NeuMoDx™ BKV še naprej javlja rezultat Negative (Negativno), se obrnite na službo za podporo strankam podjetja NeuMoDx™.
 - e) Če negativna zunanja kontrola NeuMoDx™ BKV še naprej javlja rezultat Positive (Pozitivno), poskušajte izločiti vse vire morebitne kontaminacije, vključno z menjavo VSEH reagentov, preden se obrnete na službo za podporo strankam podjetja NeuMoDx™.

(Interne) kontrole obdelave vzorca

Eksogena kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) je vključena v NeuMoDx™ Extraction Plate ter je z vsakim vzorcem vključena v celotni postopek ekstrakcije nukleinske kisline ter amplifikacije PCR v realnem času. Primerji in šobe, specifični za SPC1, so tudi vključeni v vsak testni trak NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, s čimer je omogočena zaznava prisotnosti SPC1 skupaj s ciljno DNK BKV (če je prisotna) preko multipleksa PCR v realnem času. Zaznava amplifikacije SPC1 programske opreme NeuMoDx™ System omogoča nadzor učinkovitosti ekstrakcije DNK in postopka amplifikacije PCR.

Neveljavni rezultati

Če test NeuMoDx™ BKV Quant Assay, izveden na sistemu NeuMoDx™ System, ne ustvari veljavnega rezultata, bo na podlagi tipa napake, ki se je pojavila, sporočen rezultat Indeterminate (Nedoločen) (IND), No Result (Ni rezultata) (NR) ali Unresolved (Nerešeno) (UNR).

Rezultat IND (Nedoločen) bo javljen, če je med obdelavo vzorca zaznana napaka sistema NeuMoDx™ System. V primeru, da je sporočen rezultat IND (Nedoločen), je priporočen ponovni test.

Rezultat UNR (Nerešeno) bo javljen, če ni zaznana nobena veljavna amplifikacija DNK BKV ali SPC1, kar nakazuje morebitno napako reagenta ali prisotnost inhibitorjev. V primeru, da je javljen rezultat UNR (Nerešeno), se kot prvi korak lahko izvede ponoven test. Če ponovni test ni uspešen, lahko uporabite razredčen primerek, da ublažite učinke inhibicije kateregakoli vzorca.

Če test NeuMoDx BKV Quant Assay, ki se izvaja na sistemu NeuMoDx System, ne ustvari veljavnega rezultata in se obdelava vzorca prekine pred zaključkom, bo sporočen rezultat No Result (Ni rezultata) (NR). V primeru, da je sporočen NR (Ni rezultata), je priporočen ponovni test.

KARAKTERISTIKE DELOVANJA

Analitična občutljivost – meja zaznavanja¹²

Analitična občutljivost testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay je bila opredeljena s testiranjem serije razredčitev plošče EDX BKV Verification Panel (Exact Diagnostics), kalibrirane glede na 1. Mednarodni standard WHO za virus BK (BKV) (14/212)⁹, v vzorcih plazme/seruma in urina, negativnih na BKV, za določitev meje zaznavanja (Limit of Detection, LoD) na sistemih NeuMoDx System. Za plazmo/serum (550 µl) in urin je bila LoD opredeljena kot najbližja ciljna raven, določena eksperimentalno, nad koncentracijo, določeno z analizo tipa Probit s 95-odstotnim intervalom zaupanja (IZ). Za plazmo/serum (100 µl) so raziskali eno koncentracijo vzorca, in sicer 200 IE/ml, z analizo stopnje zadetkov in jo potrdili za LoD, če je bila stopnja zaznavanja nad 95 %. Študija je bila izvedena v obdobju 3 dni na več sistemih in z več serijami reagentov NeuMoDx™. Vsak sistem je obdelal 42 ponovljenih vzorcev pri vsaki stopnji razredčitve (pozitivni vzorci) in 8 ponovljenih vzorcev za negativne vzorce na dan. Stopnje zaznavanja so prikazane v Preglednica 2 in 3.

Preglednica 2: Pozitivne stopnje zaznavanja za določanje LoD testa NeuMoDx BKV Quant Assay (plazma/serum 550 µl in urin)

| Koncentracija cilja [IE/ml] | Koncentracija cilja [log ₁₀ IE/ml] | PLAZMA/SERUM, potek dela za 550 µl | | | URIN | | |
|-----------------------------|---|------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|
| | | Število veljavnih testov | Število pozitivnih | Stopnja zaznavanja | Število veljavnih testov | Število pozitivnih | Stopnja zaznavanja |
| 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% |

Preglednica 3: Pozitivne stopnje zaznavanja za določanje LoD testa NeuMoDx BKV Quant Assay (plazma/serum 100 µl)

| Koncentracija cilja [IE/ml] | Koncentracija cilja [log ₁₀ IE/ml] | PLAZMA/SERUM, potek dela za 100 µl | | |
|-----------------------------|---|------------------------------------|--------------------|--------------------|
| | | Število veljavnih testov | Število pozitivnih | Stopnja zaznavanja |
| 200 | 2,30 | 89 | 88 | 99% |

LoD testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay za plazmo/serum (potek dela za 550 µl) je bila določena pri 20 IE/ml (1,3 log₁₀ IE/ml) s 95-odstotnim intervalom zaupanja (IZ) 11,03; za urin je bila LoD določena pri 20,0 IE/ml (1,3 log₁₀ IE/ml) s 95-odstotnim intervalom zaupanja (IZ) 13,09; za plazmo/serum (potek dela za 100 µl) je bila LoD določena pri 200 IE/ml (2,3 log₁₀ IE/ml).

Analitična občutljivost – spodnja meja kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) in zgornja meja kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

Spodnja meja kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) in zgornja meja kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) sta opredeljeni kot najnižja ciljna raven in zgornja ciljna raven, pri katerih je dosežena zaznava > 95 % IN kjer je TAE ≤ 1,0. Za določanje LLoQ in ULoQ je bila izračunana skupna analitična napaka (Total Analytical Error, TAE) za vsako od ciljnih ravni BKV, ki so poročale zaznavo > 95 %. TAE je opredeljena kot:

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

Odstopanje je absolutna vrednost razlike med povprečjem izračunane koncentracije in pričakovano koncentracijo. SD se nanaša na standardno deviacijo kvantificirane vrednosti vzorca.

Združeni rezultati za 5 ravni primerkov plazme/seruma ali urina z BKV, uporabljenih v študiji LLoQ/ULoQ, so prikazani v Preglednica 4 in 5. Na podlagi tega nabora podatkov in predhodno določene LoD sta bili LLoQ in ULoQ določeni pri 20 IE/ml (1,3 log₁₀ IE/ml) oziroma 7,58 × 10⁷ IE/ml (v tem primeru je bil uporabljen približek 8 log₁₀ IE/ml) za plazmo/serum 550 µl in urin ter pri 200 IE/ml (2,3 log₁₀ IE/ml) za plazmo/serum 100 µl.

Preglednica 4: ULoQ in LLoQ testnih trakov NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, s pristranskostjo in TAE (plazma/serum 550 µl in urin)

| Ciljna konc. [IE/ml] | Ciljna konc. [\log_{10} IE/ml] | Plazma/serum 550 µl | | | | | Urin | | | | |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|-------------|-----------------------|---------------|------|--------------------------------------|-------------|-----------------------|---------------|------|
| | | Povprečna konc. [\log_{10} IE/ml] | Zaznava (%) | Standardno odstopanje | Pristranskost | TAE | Povprečna konc. [\log_{10} IE/ml] | Zaznava (%) | Standardno odstopanje | Pristranskost | TAE |
| $7,58 \times 10^7$ | 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 |

Preglednica 5: ULoQ in LLoQ testnih trakov NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, z odstopanjem in TAE (plazma/serum 100 µl)

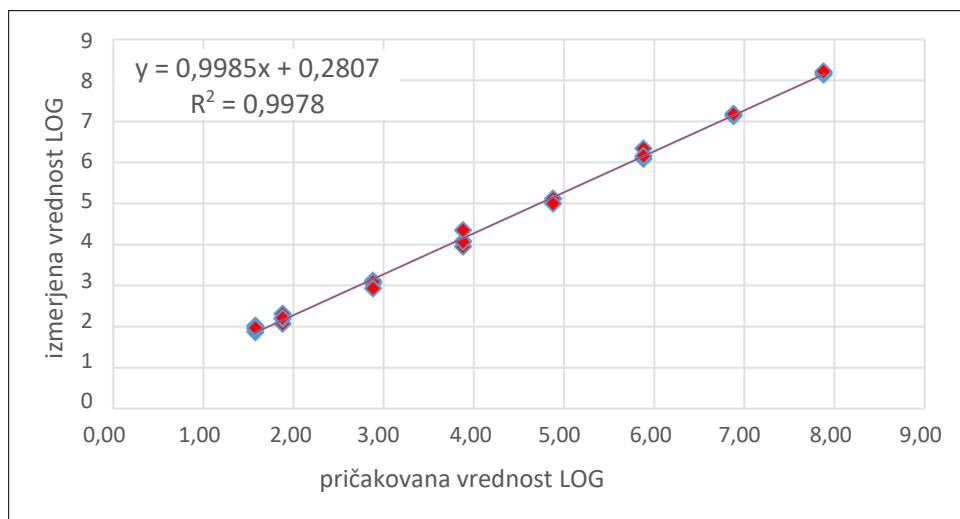
| Ciljna konc. [IE/ml] | Ciljna konc. [\log_{10} IE/ml] | Plazma/serum 100 µl | | | | |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|-------------|-----------------------|---------------|------|
| | | Povprečna konc. [\log_{10} IE/ml] | Zaznava (%) | Standardno odstopanje | Pristranskost | TAE |
| $7,58 \times 10^7$ | 8 | 8 | 100 | 0,09 | 0,07 | 0,25 |
| 200 | 2,30 | 2,30 | 99 | 0,39 | 0,003 | 0,78 |

Na podlagi rezultatov teh študij sta bili LoD in LLoQ testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay določeni pri 20 IE/ml ($1,3 \log_{10}$ IE/ml) za plazmo/serum in urin pri poteku dela za 550 µl in pri 200 IE/ml ($2,30 \log_{10}$ IE/ml) za plazmo/serum pri uporabi poteka dela za 100 µl. ULoQ za vse tipe primerkov je $7,58 \times 10^7$ IE/ml ($8 \log_{10}$ IE/ml).

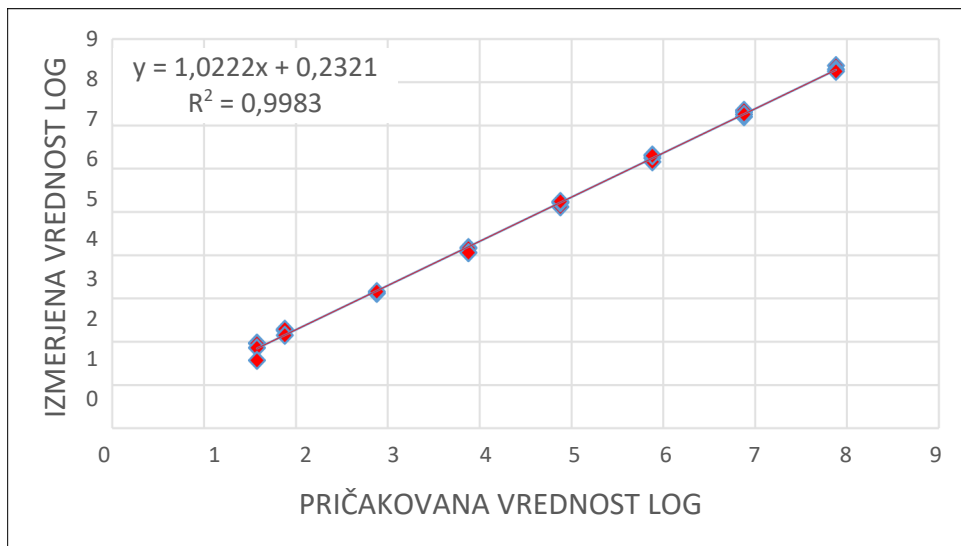
Linearnost ¹³

Linearnost testnega traku NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip je bila določena v plazmi/serumu in urinu s pripravo serije razredčitev z uporabo sintetičnega plazmida BKV Synthetic Plasmid (Integrated DNA Technologies) s potrjeno sledljivostjo do 1. Mednarodnega standarda WHO za virus BK (BKV) (14/212)⁹. Pripravljenih je bilo 11 serijskih razredčitev sintetičnega plazmida BKV Synthetic Plasmid, in sicer v matrici BaseMatrix 53, negativni na BKV, ali v združenem človeškem urinu, negativnem na BKV, s katerimi je bil zajet razpon koncentracije $7,88-1,58 \log_{10}$ IE/ml za plazmo/serum 550 µl in urin ter razpon koncentracije $6,88-2,88 \log_{10}$ IE/ml za plazmo/serum 100 µl.

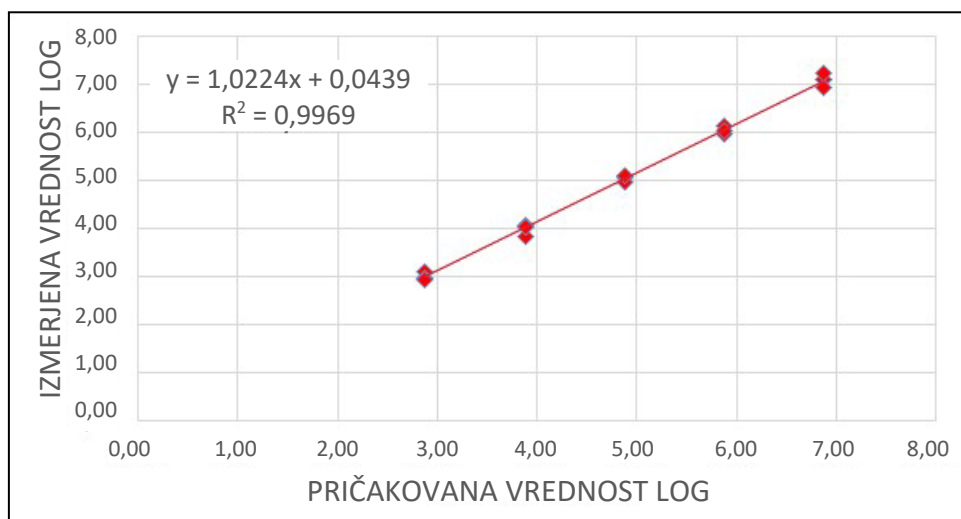
Koncentracije testa za BKV, ki jih poroča NeuMoDx™ System, v primerjavi s pričakovanimi vrednostmi, so predstavljene na *Slika 2, 3 in 4*.



Slika 2: Linearnost testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay za plazmo/serum (potek dela za 550 µl)



Slika 3: Linearnost testnega traku NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip za primerke urina



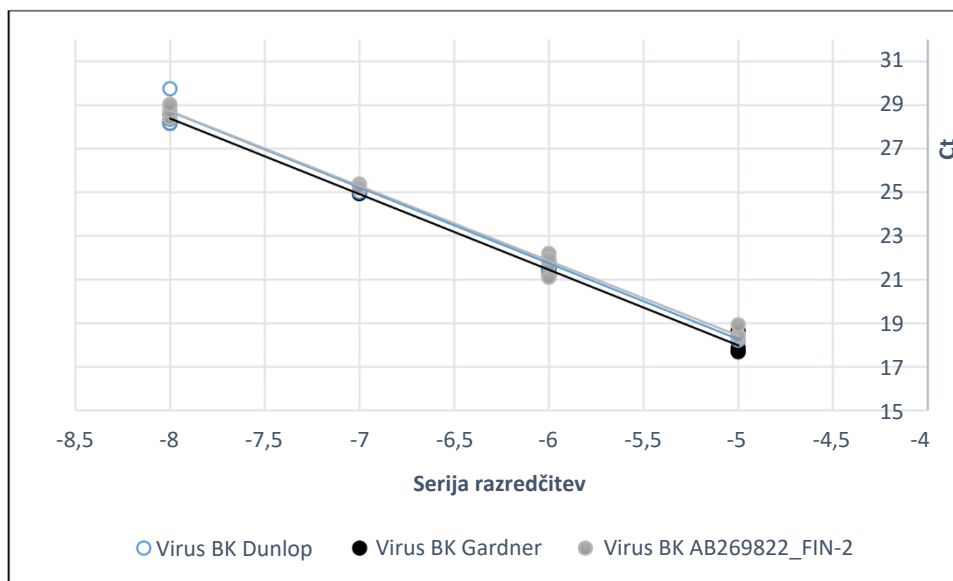
Slika 4: Linearnost testnega traku NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip za plazmo/serum (potek dela za 100 µl)

Linearnost med genotipi¹⁶

Linearnost testa NeuMoDx BKV Quant Assay med tremi genotipi BKV (virus BK Dunlop, virus BK Gardner, virus BK AB269822_FIN-2) je bila opredeljena s testiranjem štirih različnih koncentracij vsakega genotipa BKV, pripravljenege v matrici BaseMatrix 53, negativni na BKV. Genotip virusa BK S72390 ne kaže polimorfizmov v ciljnem predelu gena, ki ga pokriva testni trak NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip. Študija je bila izvedena s testiranjem 4 ponovljenih vzorcev vsakega od 3 genotipov pri 6 koncentracijah (serija 10-kratnih razredčitev). Linearnost med tremi genotipi BKV je predstavljena v Preglednica 6 in Slika 5.

Preglednica 6: Linearnost testnega traku NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip med genotipi

| Genotip | Enačba linearnosti $y = Ct \text{ testa NeuMoDx BKV Assay}$ $x = \text{serija razredčitev}$ | R ² |
|-------------------------|---|----------------|
| Virus BK Dunlop | $y = -3,4808x + 0,8595$ | 0,9926 |
| Virus BK Gardner | $y = -3,4682x + 0,6395$ | 0,9959 |
| Virus BK AB269822_FIN-2 | $y = -3,432x + 1,2683$ | 0,9947 |



Slika 5: Linearnost testnega traku NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip med genotipi

Analitična specifičnost – Navzkrižna reaktivnost ^{10,11}

Analitična specifičnost je bila dokazana s presejanjem 22 organizmov, ki jih pogosto najdemo v primerkih plazme/seruma ali urina, ter vrst, ki so filogenetsko podobne BKV, da bi odkrili morebitno navzkrižno reaktivnost. Organizmi so bili pripravljene v skupinah po 5–6 organizmov ter testirani pri visoki koncentraciji. Testirani organizmi so prikazani v Preglednica 7. Navzkrižna reaktivnost pri testiranih organizmih ni bila opažena, kar potrjuje 100-odstotno analitično specifičnost testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Preglednica 7: Patogeni, uporabljeni za dokaz analitične specifičnosti

| Neciljni organizmi | | | | | |
|---|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------|---|
| 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> | Virus hepatitis B | Adenovirus tipa 5 | Virus Epstein-Barr | Virus varicella-zoster | Virus hepatitis C |
| Virus herpesa simpleksa tipa 1 | Virus herpesa simpleksa tipa 2 | Človeški herpes virus tipa 6 | Človeški herpes virus tipa 7 | Človeški herpes virus tipa 8 | Virus humane imunskve pomanjkljivosti 1 |
| Virus humane imunskve pomanjkljivosti 2 | Virus JC | SV40 | <i>Citomegalovirus</i> | | |

Analitična specifičnost – moteče snovi, komezalni organizmi ^{10,11}

Test NeuMoDx™ BKV Quant Assay je bil ocenjen glede motenj v prisotnosti neciljnih organizmov z uporabo iste skupine organizmov, ki so bili pripravljene za testiranje navzkrižne reaktivnosti, navedene zgoraj v Preglednica 7. Negativna plazma BKV je bila obogatena z organizmi, združenimi v skupinah po 5–6, ter obogatena tudi s ciljem BKV pri koncentraciji 4 log₁₀ IE/ml. Pomembna motnja v prisotnosti teh komezalnih organizmov ni bila opažena, kot je pokazal minimalni odklon kvantifikacije od kontrolnih primerkov, ki niso vsebovali motečega agenta.

Analitična specifičnost – moteče snovi, endogene in eksogene snovi ^{10,11}

Test NeuMoDx™ BKV Quant Assay je bil ocenjen v prisotnosti tipičnih eksogenih in endogenih motečih snovi, s katerimi se srečujemo pri kliničnih primerkih plazme/seruma ali urina z BKV. Vsebovale so nenavadno visoke ravni krvnih ali urinskih komponent, kot tudi splošna protivirusna zdravila, ki so razvrščena v Preglednica 8. Vsaka snov je bila dodana presejani BKV-negativni matrici BaseMatrix 53 ali človeškemu urinu, obogatenemu s 3 log₁₀ IE/ml BKV, vzorci pa so bili nato analizirani glede motenj. Povprečna koncentracija in pristranskost vseh testiranih snovi v primerjavi s kontrolnimi vzorci, obogatenimi z isto ravno BKV, sta navedeni v Preglednica 9. Nobena od eksogenih in endogenih snovi ni vplivala na specifičnost testa NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Preglednica 8: Testiranje interference – eksogeni agenti (klasifikacije zdravil)

| Skupina | Ime zdravila | Klasifikacija |
|------------------|---------------------|--|
| Skupina 1 | Valganciklovir | PROTIVIRUSNO ZDRAVILO |
| | Prednizon | ZDRAVILO ZA ZAVIRANJE IMUNSKE ODZIVNOSTI |
| | Cidofovir | PROTIVIRUSNO ZDRAVILO |
| | Cefotaksim | ANTIBIOTIK |
| | Mikofenolat mofetil | ZDRAVILO ZA ZAVIRANJE IMUNSKE ODZIVNOSTI |
| Skupina 2 | Vankomicin | ANTIBIOTIK |
| | Takrolimus | ZDRAVILO ZA ZAVIRANJE IMUNSKE ODZIVNOSTI |
| | Famotidin | ANTAGONIST HISTAMINA |
| | Valaciklovir | PROTIVIRUSNO ZDRAVILO |
| | Leflunomid | ZDRAVILO ZA ZAVIRANJE IMUNSKE ODZIVNOSTI |

Preglednica 9: Testiranje interference – eksogeni in endogeni agenti

| Endogeni (plazma/serum) | Povprečna konc. | Pristranskost |
|--|-------------------------|-------------------------|
| | log ₁₀ IE/ml | log ₁₀ IE/ml |
| Trigliceridi 500 mg/dl | 3,09 | 0,16 |
| Konjugirani bilirubin (0,25 g/l) | 3,09 | 0,16 |
| Nekonjugirani 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 |
| Endogeni (urin) | Povprečna konc. | Pristranskost |
| | log ₁₀ IE/ml | log ₁₀ IE/ml |
| Urobilirubin (> 2 mg/dl) | 3,74 | -0,09 |
| Glukoza (1.000 mg/dl) | 4,00 | 0,04 |
| Urine s pH 4 | 3,75 | 0,29 |
| Urine s pH 10 | 3,77 | 0,27 |
| Levkociti (1E5 celic/ml) | 3,68 | -0,06 |
| Kri, 7 % | 3,42 | -0,32 |
| Protein (albumin > 100 mg/dl) | 3,96 | 0,08 |
| Smuhec | 3,92 | 0,12 |
| Eksogena (zdravila) | Povprečna konc. | Pristranskost |
| | log ₁₀ IE/ml | log ₁₀ IE/ml |
| Skupina 1: Valganciklovir, prednizon, cidofovir, cefotaksim, mikofenolat mofetil | 4,04 | -0,06 |
| Skupina 2: Vankomicin, takrolimus, famotidin, valaciklovir, leflunomid | 4,07 | -0,09 |

Ponovljivost in natančnost znotraj laboratorija¹⁴

Natančnost testnega traku NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip je bila določena s testiranjem 2 ponovljenih vzorcev 5-komponentnega panela primerkov BKV, pripravljenih s plazmidom BKV, dvakrat na dan z uporabo enega sistema NeuMoDx™ 96 System v obdobju 20 dni. Določena je bila natančnost znotraj postopka in znotraj dneva, skupni standardni odklon pa je bil določen pri $\leq 0,30 \log_{10}$ IE/ml. Dokazana je bila odlična natančnost med dnevi in postopki, kot je prikazano v *Preglednica 10*. Natančnost med upravljavci ni bila določena, saj upravljavec ne igra pomembne vloge pri obdelavi vzorcev z uporabo sistema NeuMoDx™ System.

Preglednica 10: Natančnost znotraj laboratorija – test NeuMoDx BKV Quant Assay na sistemih NeuMoDx System

| Vzorec | Znotraj dneva SO (\log_{10} IE/ml) | Med dnevom SO (\log_{10} IE/ml) | Znotraj postopka SO (\log_{10} IE/ml) | Med postopkom SO (\log_{10} IE/ml) | Znotraj laboratorija SO (\log_{10} IE/ml) |
|---|---------------------------------------|------------------------------------|--|---------------------------------------|--|
| Primerek plazme/seruma (volumen vhoda 550 μl) | | | | | |
| RISppHIGH | 0,10 | 0,08 | 0,10 | 0,01 | 0,13 |
| RISppMIDDLE | 0,14 | 0,10 | 0,11 | 0,06 | 0,17 |
| RISppMLOW | 0,22 | 0,12 | 0,21 | 0,02 | 0,25 |
| RISppLOW | 0,21 | 0,03 | 0,18 | 0,10 | 0,21 |
| RISppNEG | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Primerek urina | | | | | |
| 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 |

Ponovljivost med serijami¹⁴

Ponovljivost rezultatov testnih trakov NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip je bila določena z uporabo treh različnih serij testnih trakov NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips. Za oceno delovanja je bil uporabljen 5-komponentni panel vzorcev BKV, pripravljenih s plazmidom BKV, na enem sistemu NeuMoDx™ 96 Molecular System pri 3 ločenih postopkih. Analizirane so bile razlike znotraj serije in med serijami, rezultati pa izraženi kot absolutna pristranskost kvantifikacije med serijami, kar je predstavljeno v *Preglednica 11*. Maksimalna skupna pristranskost je bila $0,27 \log_{10}$ IE/ml. Ekvivalentno delovanje je bilo dokazano pri vseh serijah, saj je bila kvantifikacija vseh komponent panela znotraj določene tolerance.

Preglednica 11: Ponovljivost med serijami – test NeuMoDx BKV Quant Assay

| Vzorec | Absolutna pristranskost med serijo 1 in serijo 2 (\log_{10} IE/ml) | Absolutna pristranskost med serijo 1 in serijo 3 (\log_{10} IE/ml) | Absolutna pristranskost med serijo 2 in serijo 3 (\log_{10} IE/ml) |
|---|---|---|---|
| Primerek plazme/seruma (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 |
| Primerik urina (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 |

Ponovljivost med instrumenti¹⁴

Ponovljivost rezultatov testa s testnimi trakovi NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip med instrumenti je bila določena z uporabo treh različnih sistemov (dveh sistemov NeuMoDx™ 288 Molecular System in enega sistema NeuMoDx™ 96 Molecular System). Za oceno delovanja je bil uporabljen 5-komponentni panel vzorcev BKV, pripravljenih s plazmidom BKV. Testiranje je bilo izvajano na vseh sistemih hkrati v obdobju 5 dni. Opredeljene so bile razlike znotraj dneva in med sistemi, skupni standardni odklon pa je bil določen pri $\leq 0,30 \log_{10}$ IE/ml. Ekvivalentno delovanje je bilo dokazano pri vseh sistemih, saj je bilo standardno odstopanje (Standard Deviation, SD) pri kvantifikaciji vseh komponent panela znotraj določene tolerance (*Preglednica 12*).

Preglednica 12: Ponovljivost med instrumenti – testni trak NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

| Vzorec | Ponovljivost SO (log ₁₀ IE/ml) | SO med dnevi (log ₁₀ IE/ml) | Znotraj instrumenta SO (log ₁₀ IE/ml) | SO med instrumenti (log ₁₀ IE/ml) | Ponovljivost SO (log ₁₀ IE/ml) |
|--|--|---|--|--|--|
| Primerek plazme/seruma (volumen vhoda 550 µl) | | | | | |
| RISppHIGH | 0,10 | 0,05 | 0,11 | 0,06 | 0,12 |
| RISppMIDDLE | 0,13 | 0,05 | 0,13 | 0,04 | 0,13 |
| RISppMLOW | 0,10 | 0,06 | 0,12 | 0,04 | 0,12 |
| RISppLOW | 0,12 | 0,05 | 0,13 | 0,04 | 0,13 |
| RISppNEG | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Primerek urina | | | | | |
| 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 |

REFERENCE

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.

BLAGOVNE ZNAMKE















NeuMoDx™ je blagovna znamka družbe NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® je registrirana znamka podjetja Roche Molecular Systems, Inc.

STAT-NAT® je registrirana blagovna znamka podjetja SENTINEL CH. S.p.A.

Vsa druga imena izdelkov, blagovnih znamk in registriranih blagovnih znamk, ki se lahko pojavljajo v tem dokumentu, so last njihovi zadevnih lastnikov.

SIMBOLI

| SIMBOL | POMEN |
|---|--|
|  | Samo za uporabo na recept |
|  | Proizvajalec |
|  | Distributer |
|  | Diagnostični medicinski pripomoček <i>in vitro</i> |
|  | Kataloška številka |
|  | Koda serije |
|  | Glejte navodila za uporabo |
|  | Pozor: preberite spremne dokumente |
|  | Omejitev temperature |
|  | Hranite na suhem mestu |
|  | Ne uporabljajte ponovno |
|  | Ne izpostavljajte svetlobi |
|  | Vsebuje zadostno količino za <n> testov |
|  | Uporabno do |



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

Poročanje v okviru vigilance: www.neumodx.com/contact-us

Patent: www.neumodx.com/patents