


201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip
ATENȚIE: Doar pentru export din S.U.A.


A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro* cu sistemele NeuMoDx™ 288 și NeuMoDx™ 96 Molecular System

Acest prospect trebuie citit cu atenție înainte de utilizarea produsului. Instrucțiunile din prospect trebuie urmate în mod corespunzător.



Fiabilitatea rezultatelor analizei nu poate fi garantată dacă există abateri de la instrucțiunile din acest prospect. Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx™ 288 Molecular System; Nr.P. 40600108. Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx™ 96 Molecular System; Nr.P. 40600317



DOMENIUL DE UTILIZARE

NeuMoDx™ BKV Quant Assay este o testare automată, *in vitro* de amplificare a acidului nucleic, pentru identificarea și cuantificarea ADN-ului virusului BK (BK Virus, BKV) în probele prelevate din plasmă/ser și urină umane. Testul NeuMoDx BKV Assay aplicat pe NeuMoDx™ 288 Molecular System și NeuMoDx™ 96 Molecular System (sistemele NeuMoDx™ System) încorporează extracția automatizată a ADN-ului pentru a izola acidul nucleic țintă de eșantion și reacția de polimerizare în lanț (Polymerase Chain Reaction, PCR) în timp real pentru a viza secvențele din genomul BKV.

Testul NeuMoDx BKV Quant Assay este destinat ca ajutor în diagnosticul și monitorizarea infecției cu virusul BK, împreună cu alte concluzii clinice și de laborator.

REZUMAT ȘI EXPLICAȚII

Sângele integral uman recoltat în eprubete sterile de recoltare a sângelui care conțin EDTA ca agent de anticoagulare sau în eprubete pentru pregătirea plasmă (Plasma Preparation Tubes, PPT) poate fi folosit pentru pregătirea plasmă, în timp ce serul trebuie recoltat în eprubete de recoltare a serului sau în eprubete pentru separarea serului (Serum Separation Tubes, SST). Pentru testarea unui eșantion de urină este recoltată o probă de urină într-un recipient standard pentru recoltarea urinei, fără conservanți sau aditivi. Pentru pregătirea pentru testare, plasmă/serul sau urina, într-o eprubetă pentru eșantioane primară sau secundară compatibilă cu NeuMoDx™ System, este încărcată(ă) pe NeuMoDx™ System utilizând un suport dedicat de eprubete pentru eșantioane, pentru începerea procesării automate. Pentru eșantioanele de plasmă/ser, o parte alicotă de 550 μl din probă este amestecată cu NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 din instrument sau, alternativ, o parte alicotă de 100 μl din proba de plasmă/ser este amestecată cu NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. Pentru probele de urină, o parte alicotă de 550 μl din probă este amestecată cu NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 din instrument. NeuMoDx™ System efectuează automat toate etapele necesare extragerii acidului nucleic țintă, pregătirii ADN-ului izolat pentru amplificarea PCR în timp real și amplificării și detectării produsilor de amplificare, dacă sunt prezenți. NeuMoDx™ BKV Quant Assay include o substanță de control pentru procesarea probei de ADN (Sample Process Control, SPC1), care ajută la monitorizarea prezenței unor substanțe potențial inhibitoare, precum și a erorilor NeuMoDx™ System sau de reactiv, care pot fi întâlnite în timpul proceselor de extracție și amplificare.

Poliomavirusul BK (BK Polyomavirus, BKV) este un membru al familiei Polyomaviridae de virusuri cu ADN dublu catenar (double-stranded DNA, dsDNA). BKV provoacă o infecție obișnuită în copilărie fără sechele clinice majore, > 80 % dintre adulți fiind seropozitivi la BKV.¹ Infecția primară cu acest virus dsADN este, în general, asimptomatică și apare în copilărie. Cele mai frecvente simptome, atunci când se observă, sunt febra și infecția nespecifică a tractului respirator superior.² După apariția infecției primare, virusul poate rămâne latent în multe locuri, în special în rinichi. Transmiterea poate avea loc prin expunerea la fluide corporale. În stările de imunodeficiență celulară relativă sau absolută, virusul poate fi reactivat și poate provoca boala.²

Cuantificarea încărcării virale pe bază de PCR în plasmă/ser și urină este instrumentul clinic standard pentru monitorizarea reactivării BKV. Studiile care raportează rezultatele PCR cantitative ale BKV demonstrează o corelare pozitivă între încărcăturile virale mai mari și o probabilitate crescută de a dezvolta nefropatie asociată cu BKV (BKV-Associated Nephropathy, BKVAN)¹. Alte instrumente clinice utilizate pentru a descrie agregatele BKV în urină este microscopia electronică, care prezintă agregate BKV tridimensionale. Cu toate acestea, analiza nu este fezabilă pentru practica clinică de rutină din cauza costului și a disponibilității limitate a microscopiei electronice.¹

PRINCIPIILE PROCEDURII

NeuMoDx™ BKV Quant Assay pe NeuMoDx™ System utilizează 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 și reactivi NeuMoDx™ de uz general pentru a efectua analiza. Temperatura de depozitare a reactivilor este de + 15/+ 30 °C.

Testul NeuMoDx™ BKV Quant Assay combină extracția automatizată a ADN-ului, amplificarea și detecția prin PCR în timp real. Eșantioanele de plasmă/ser sau urină dintr-o eprubetă pentru eșantioane primară sau secundară compatibilă cu NeuMoDx™ System sunt amplasate într-un suport de eprubete pentru eșantioane, care este încărcat ulterior pe NeuMoDx™ System pentru procesare. Nu mai este necesară nicio altă intervenție a operatorului.

Sistemele NeuMoDx™ System utilizează o combinație de căldură, enzimă litică și reactivi de extracție pentru a efectua automat liza celulară, extracția ADN-ului și eliminarea inhibitorilor. Acizii nucleici degajați sunt captați de particule paramagnetice. Particulele, împreună cu acizii nucleici legați, sunt încărcate în NeuMoDx™ Cartridge, unde componenții nelegați, non-ADN sunt spălați ulterior cu NeuMoDx™ Wash Reagent, iar ADN-ul legat este eluat utilizând NeuMoDx™ Release Reagent. Ulterior, sistemele NeuMoDx™ System utilizează ADN-ul eluat pentru rehidratarea reactivilor brevetate de amplificare Sentinel CH. Iolifilizați (tehnologie STAT-NAT™), care conțin toate elementele necesare pentru amplificarea PCR a țintelor SPC1 și specifice BKV. La reconstituirea reactivilor PCR iolifilizați, NeuMoDx™ System distribuie amestecul pregătit compatibil cu PCR în NeuMoDx™ Cartridge. Amplificarea și detecția secvențelor de ADN de control și țintă (dacă sunt prezente) au loc în zona camerei PCR din NeuMoDx™ Cartridge. De asemenea, NeuMoDx™ Cartridge este conceput pentru a îngloba ampliconul după PCR în timp real, eliminând în principal riscul contaminării post-amplificare.

Țintele amplificate sunt detectate în timp real, utilizând chimia sondei de hidroliză (denumită în mod popular drept chimie TaqMan®), utilizând molecule depistate cu sonda de testare fluorogenică specifică oligonucleotidelor, specifică ampliconilor pentru țintele respective.

Sondele TaqMan® constau în fluorofor legat covalent de capătul 5' al tulpinii sondei specifice oligonucleotidelor și într-o substanță extincătoare de fosforescență la capătul 3'. Deși sonda este intactă, fluoroforul și substanța extincătoare de fosforescență sunt în apropiere, ceea ce face ca molecula de substanță extincătoare de fosforescență să tempereze fluorescența emisă de fluorofor prin FRET (Förster Resonance Energy Transfer, transfer de energie de rezonanță Förster).

Sondele TaqMan® sunt destinate temperaturii într-o regiune ADN amplificată printr-un set specific de soluții de amorsare. Pe măsură ce Taq ADN-polimeraza extinde soluția de amorsare și sintetizează noua tulpină, activitatea exonucleazică 5'-3' a Taq ADN-polimerazei degradează sonda care a fost temperată la șablon. Degradarea sondei degajă fluorofor și rupe proximitatea față de substanța extincătoare de fosforescență, astfel prevenind efectul de temperare cauzat de FRET și permițând detecția fluorescenței fluoroforului. Semnalul fluorescent rezultat, detectat în ciclatorul termic pentru PCR cantitativ NeuMoDx™ System este direct proporțional cu fluoroforul eliberat și poate fi corelat cu cantitatea prezentă de ADN țintă.³

Sondele TaqMan® etichetate cu fluorofori la capătul 5' și substanțele extincătoare de fosforescență la capătul 3' sunt utilizate pentru a detecta ADN-ul BKV și ADN-ul SPC1. Software-ul NeuMoDx™ System monitorizează semnalul fluorescent emis de sondele TaqMan la sfârșitul fiecărui ciclu de amplificare. Când amplificarea este completă, software-ul NeuMoDx™ System analizează datele și raportează un rezultat final (POSITIVE (POZITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE (NECONCLUDENT)/UNRESOLVED (NEREZOLVAT)/NO RESULT (NICIUN REZULTAT)). Dacă un rezultat este pozitiv și concentrația calculată este în limitele de cuantificare, software-ul NeuMoDx System oferă, de asemenea, o valoare cantitativă asociată cu proba.



REACTIVI/CONSUMABILE

Materiale furnizate

REF	Conținut	Unități pe pachet	Testări pe unitate	Testări pe pachet
201800	NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip <i>Reactivi PCR liofilizați care conțin sonde și soluții de amorsare TaqMan® specifice BKV, pe lângă sondele și soluțiile de amorsare TaqMan® specifice SPC1.</i>	6	16	96

Reactivi și consumabile necesare, dar nefurnizate (disponibile separat de la NeuMoDx)

REF	Conținut
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Particule paramagnetice deshidratate, enzime litice deshidratate și substanțe de control deshidratate pentru procesarea probei</i>
800600	NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit <i>Seturi de unică folosință de calibratoare puternice și slabe deshidratate pentru BKV, pentru a stabili validitatea curbei standard</i>
900601	NeuMoDx™ BKV External Control Kit <i>Seturi de unică folosință de substanțe de control deshidratate pozitive și negative la BKV pentru a stabili validitatea zilnică a 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	Vârfuri Hamilton CO-RE (300 µl) cu filtre
235905	Vârfuri Hamilton CO-RE (1000 µl) cu filtre

Instrumentar necesar

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

AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip este destinată exclusiv pentru diagnosticare *in vitro* cu sistemele NeuMoDx™ System.
- Citiți toate instrucțiunile incluse în prospectul kitului înainte de a efectua testarea.
- Nu utilizați reactivii sau consumabilele după data de expirare menționată.
- Nu utilizați reactivii în cazul în care sigiliul de siguranță este rupt sau dacă ambalajul este deteriorat la sosire.
- Nu utilizați consumabilele sau reactivii dacă pungă de protecție este deschisă sau ruptă la sosire.
- Nu amestecați cu reactivii pentru amplificarea din alte kituri comerciale.
- A nu se reutiliza.
- Păstrați toate bandelele NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ferite de lumină și umiditate, în plicurile din aluminiu aferente.
- Înainte ca rezultatele testării să poată fi generate pentru probele clinice trebuie să fie disponibilă o calibrare validă a testării (generată prin procesarea calibratoarelor puternice și slabe din NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit REF 800600).
- NeuMoDx™ BKV External Control Kit (REF 900601) trebuie procesat la fiecare 24 de ore pe parcursul testării cu NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- Volumul minim al eșantionului depinde de dimensiunea eprubetei, de suportul de eșantioane și de fluxul de lucru pentru volumul eșantionului, conform definiției de mai jos. Volumul sub minimul specificat poate duce la o eroare „Quantity Not Sufficient” (Cantitate insuficientă).
- Efectuarea unui test BKV pe eșantioane depozitate la temperaturi necorespunzătoare sau pe perioade care depășesc perioadele de depozitare specificate poate genera rezultate nevalide sau eronate atunci când se utilizează NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Evitați contaminarea microbiană și deoxiribonucleică (DNază) a tuturor reactivilor și consumabilelor. Se recomandă folosirea pipetelor de transfer sterile de unică folosință, fără DNază, dacă utilizați eprubete secundare pentru eșantioane. Utilizați câte o pipetă nouă pentru fiecare eșantion.
- Pentru a evita contaminarea nu manipulați și nu desfaceți niciun cartuș NeuMoDx™ Cartridge după amplificarea. În niciun caz nu recuperați cartușele NeuMoDx™ Cartridge din recipientul pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx™ 288 Molecular System) sau din coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx™ 96 Molecular System). NeuMoDx™ Cartridge este conceput pentru a preveni contaminarea.
- În cazurile în care testările PCR cu eprubete deschise sunt realizate în laborator, aveți grijă să vă asigurați că NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, consumabilele și reactivii suplimentari necesari pentru testare, echipamentul individual de protecție, precum mănuși și halate de laborator, și NeuMoDx™ System nu sunt contaminate.
- În timpul manipulării reactivilor și a consumabilelor NeuMoDx™ trebuie purtate mănuși curate din nitril, fără pulbere. Aveți grijă să nu atingeți suprafața superioară a NeuMoDx™ Cartridge, suprafața de etanșare cu folie a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip sau NeuMoDx™ Extraction Plate, ori suprafața superioară a recipientelor NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 și 5; manipularea consumabilelor și a reactivilor trebuie făcută doar prin atingerea suprafețelor laterale.
- Fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) sunt puse la dispoziție pentru fiecare reactiv (după caz) la www.neumodx.com/client-resources.
- O bară verticală la marginea textului indică modificări în comparație cu versiunea anterioară a instrucțiunilor de utilizare.
- Spălați-vă bine pe mâini după efectuarea testării.
- Nu pipetați prin intermediul cavității bucale. Nu fumați, nu consumați băuturi sau alimente în zonele în care se manipulează eșantioane sau reactivi.
- Manipulați întotdeauna eșantioanele ca și cum ar fi infecțioase și în conformitate cu procedurile sigure de laborator, cum ar fi cele descrise în conformitate cu standardul OSHA privind agenții patogeni transmisibili prin sânge⁴; nivelul de biosecuritate 2⁵ sau alte practici adecvate de biosecuritate^{6,7} ar trebui utilizate pentru materialele care conțin sau sunt suspectate a conține agenți infecțioși.
- Eliminați reactivii nefolosiți și deșeurile în conformitate cu reglementările naționale, federale, regionale, statale și locale.
- Rezultatele obținute cu NeuMoDx™ BKV Quant Assay trebuie interpretate împreună cu alte concluzii clinice și de laborator.
- Ca și în cazul altor testări, rezultatele negative nu exclud infecția cu BKV.

DEPOZITAREA, MANIPULAREA ȘI STABILITATEA PRODUSULUI

- Bandelele NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip sunt stabile în ambalajul primar de la 15 până la 30 °C până la data de expirare menționată pe eticheta aplicată direct pe produs.
- O bandă NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip încărcată în NeuMoDx™ System este stabilă timp de 32 de zile; software-ul NeuMoDx™ System va solicita eliminarea bandelelor de testare care au fost utilizate pe instrumentul NeuMoDx™ System mai mult de 32 de zile; bandelele NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip noi trebuie deschise (extrageți bandelele din pungă) și încărcate pe NeuMoDx™ System. Nu îndepărtați folia de aluminiu de pe bandă în timpul încărcării pe NeuMoDx™ System.
- Calibratoarele și substanțele de control NeuMoDx™ sunt neinfecțioase, dar ar trebui să fie aruncate împreună cu deșeurile biopericuloase de laborator după utilizare, deoarece vor conține materie țintă după procesare pe sistem, care ar putea genera contaminarea dacă nu sunt manipulate corespunzător.

RECOLTAREA, TRANSPORTUL ȘI DEPOZITAREA EȘANTIOANELOR

1. Manipulați toate eșantioanele ca și cum ar fi capabile să transmită agenți infecțioși.
2. Nu congelați eșantioanele de sânge integral sau eșantioanele de plasmă/ser depozitate în eprubete primare.
3. Pentru pregătirea eșantioanelor de plasmă, sângele integral trebuie recoltat în eprubete sterile, utilizând EDTA drept anticoagulant. Eșantioanele de ser trebuie pregătite în eprubete pentru separatoare de ser. Probele de urină trebuie colectate în eprubete sau recipiente sterile. Urmați instrucțiunile producătorului eprubetelor de recoltare a eșantioanelor.
4. Sângele integral recoltat în dispozitivele enumerate mai sus poate fi depozitat și/sau transportat timp de până la 24 de ore la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C înainte de pregătirea plasmăi/serului. Pregătirea probelor trebuie realizată în conformitate cu instrucțiunile producătorului.
5. Depozitarea la temperatura ambientală a probelor neprocesate de urină proaspătă trebuie redusă la minimum, deoarece pH-ul scăzut și conținutul ridicat de uree denaturează rapid ADN-ul, în special la temperaturi de minimum 25 °C.
6. Eșantioanele pregătite de plasmă/ser și urină pot fi depozitate pe NeuMoDx™ System timp de până la 24 de ore înainte de procesare. Dacă este necesar un timp suplimentar de depozitare, se recomandă ca eșantioanele să fie refrigerate sau congelate ca părți alicote secundare.
7. Eșantioanele pregătite de plasmă/ser și urină trebuie depozitate între 2 și 8 °C timp de maximum 8 zile înainte de testare, și maximum 24 de ore la temperatura camerei.
8. Eșantioanele pregătite pot fi depozitate la < -20 °C timp de până la 8 săptămâni pentru plasmă și 2 săptămâni pentru ser, înainte de procesare; probele de plasmă și de ser nu trebuie supuse la mai mult de 2 cicluri de congelare/decongelare înainte de utilizare:
 - a. Dacă probele sunt congelate, lăsați-le să se decongeleze complet la temperatura camerei (15-30 °C); vortexați pentru a genera o probă cu distribuție uniformă.
 - b. După decongelarea probelor congelate, testarea trebuie să aibă loc în decurs de 24 ore.
 - c. Nu se recomandă congelarea plasmăi/serului în eprubete de recoltare primare.
9. Odată procesate, probele de urină pot fi depozitate la 2-8 °C.
10. Dacă eșantioanele sunt expediate, acestea trebuie să fie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările naționale ale țării respective și/sau cu reglementările internaționale.
11. Etichetați clar eșantioanele și indicați faptul că acestea sunt dedicate testării BKV.
12. Accesați secțiunea *Pregătirea testării*.

Procesul global de punere în aplicare a testului NeuMoDx™ BKV Quant Assay este sintetizat în *Figura 1*.

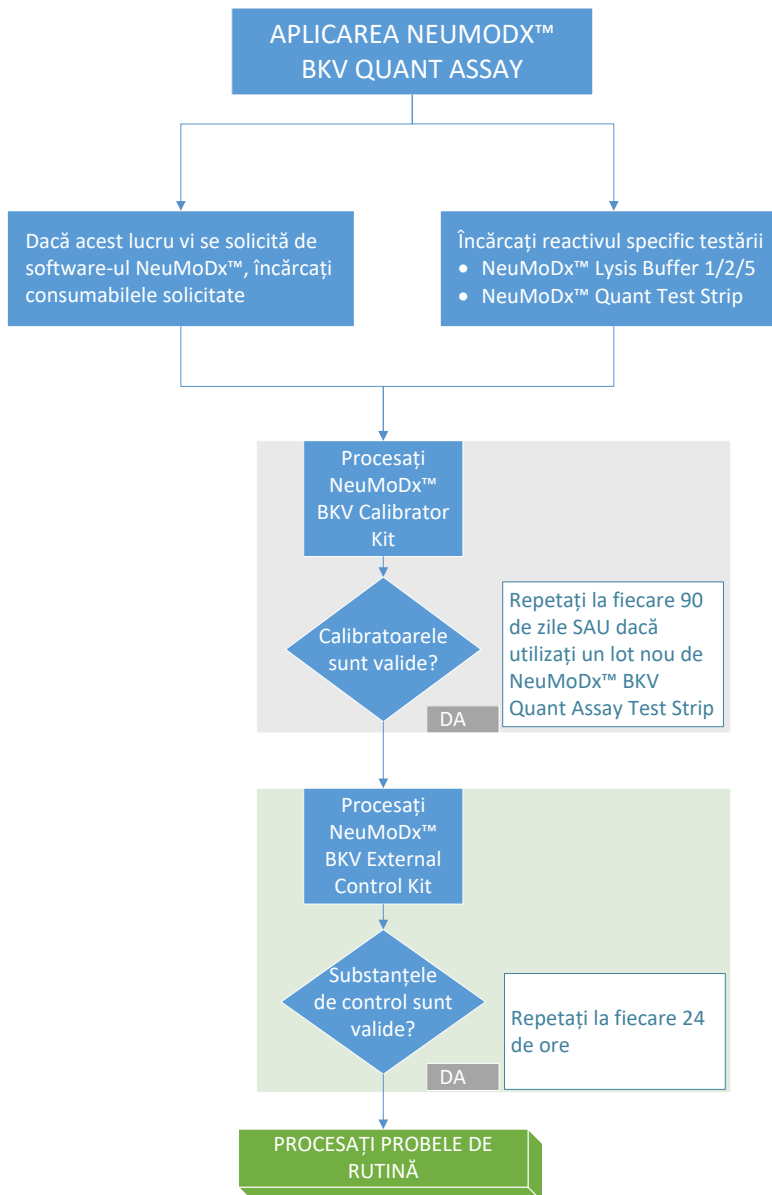


Figura 1: Flux de lucru pentru aplicarea NeuMoDx BKV Quant Assay

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Pregătirea testării

Pentru probele de plasmă/ser, testul NeuMoDx BKV Quant Assay poate fi rulat direct din eprubetele primare de recoltare a sângelui sau din părți alicote ale eșantionului, în eprubete secundare. Procesarea poate fi rulată utilizând unul din două fluxuri de lucru pentru procesarea volumelor de eșantion – fluxul de lucru pentru un volum al eșantionului de 550 µl sau fluxul de lucru pentru procesarea eșantioanelor de 100 µl. Probele de urină sunt rulate folosind numai fluxul de lucru pentru un volum al eșantionului de 550 µl.

1. Aplicați eticheta cu cod de bare a eșantionului pe o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx™ System. Eprubeta primară de recoltare a sângelui poate fi etichetată și introdusă direct într-un suport de eprubete pentru eșantioane cu 32 de eprubete, după centrifugare, conform instrucțiunilor producătorului.
2. Dacă efectuați testarea eșantionului de plasmă/ser în eprubeta principală de recoltare, amplasați eprubeta cu cod de bare într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacul înainte de încărcarea pe NeuMoDx System. Volumele minime **de deasupra** stratului de gel/leuco-trombocitar sunt definite mai jos și vor fi atinse dacă eșantioanele sunt recoltate și procesate în conformitate cu instrucțiunile producătorului de eprubete. Nu este garantată performanța pentru eșantioanele recoltate în mod necorespunzător.

Recoltarea sângelui Tip de eprubetă	Volum minim necesar eșantion	
	Flux de lucru 550 µl	Flux de lucru 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/ser – 4,0 ml	1050 µl	650 µl
K ₂ EDTA/ser – 6,0 ml	1250 µl	850 µl
K ₂ EDTA/ser – 10,0 ml	1600 µl	1200 µl

3. Pentru probele de urină sau probele de plasmă/ser într-o eprubetă secundară, transferați o parte alicotă de eșantion în eprubeta pentru eșantioane marcată cu cod de bare compatibilă cu NeuMoDx System, în funcție de volumele definite mai jos:

Suport de eprubete pentru eșantioane	Dimensiune eprubetă	Volum minim necesar eșantion	
		Flux de lucru 550 µl	Flux de lucru 100 µl (Doar plasmă/ser)
32-Tube Specimen Tube Carrier (Suport de eprubete pentru eșantioane pentru 32 de eprubete)	Diametru 11-14 mm cu înălțimea 60-120 mm	700 µl	350 µl
24-Tube Specimen Tube Carrier (Suport de eprubete pentru eșantioane pentru 24 de eprubete)	Diametru 14,5-18 mm cu înălțimea 60-120 mm	1100 µl	750 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane)	Eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă	650 µl	250 µl

Utilizarea NeuMoDx System

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx™ 288 și 96 Molecular System (p/n 40600108 și 40600317)

1. Încărcați comanda de testare pe NeuMoDx System în conformitate cu tipul de eșantion și de eprubetă dorit:
 - Volumul eșantionului de 550 µl este testat prin definirea tipului de eșantion ca „**Plasma**” (Plasmă), „**Serum**” (Ser) sau „**Urine**” (Urină)
 - Volumul eșantionului de 100 µl este testat prin definirea tipului de eșantion ca „**Plasma2**” (Plasmă2) sau „**Serum2**” (Ser2)
 - Dacă nu este definit în comanda de testare, tipul de eșantion **Plasma** (Plasmă) într-o **Secondary Tube** (Eprubetă secundară) va fi folosit implicit.
2. Tăiați pungile din aluminiu ale NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip în punctul indicat de creștăturile laterale.
3. Scoateți bandelele din pungă imediat înainte de utilizare.
4. Înainte de a utiliza pungile, asigurați-vă întotdeauna că acestea sunt bine sigilate și că pliculețul cu sicativ încă este în interior. Folosiți numai pachete nedeteriorate.
5. Eliminați pungile din aluminiu și conținutul acestora dacă pliculețul cu sicativ se schimbă din portocaliu în verde.

6. Populați unul sau mai multe suporturi pentru bandetele de testare NeuMoDx™ System cu bandetele NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor pentru bandetele de testare în NeuMoDx™ System.
7. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx™ System, adăugați consumabilele necesare în suporturile de consumabile NeuMoDx™ System și folosiți ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor în NeuMoDx™ System.
8. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx™ System, înlocuiți NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, goliți deșeurile de amorsare, recipientul pentru deșeuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 288 Molecular System), coșul de gunoi pentru aruncarea vârfurilor (doar la NeuMoDx 96 Molecular System) sau coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 96 Molecular System), după caz.
9. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx™ System, procesați Calibrators (REF 800600) și/sau External Controls (REF 900601), după cum este necesar. Informații suplimentare privind calibratoarele și substanțele de control pot fi găsite în secțiunea *Procesarea rezultatelor*.
10. Încărcați eprubetele pentru eșantioane/calibratoare/substanțe de control într-un suport standard pentru 32 de eprubete și asigurați-vă că ați scos capacele din toate eprubetele.
11. Amplasați suportul de eprubete pentru eșantioane în orice poziție deschisă pe raftul încărcătorului automat și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului în NeuMoDx™ System. Această acțiune va iniția procesarea eșantioanelor încărcate pentru testările identificate, cu condiția ca în sistem să existe o comandă de testare validă.

LIMITĂRI

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip poate fi utilizată doar pe sistemele NeuMoDx™ System.
- Performanța NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip a fost stabilită pentru eșantioanele de plasmă și ser preparate din sânge integral recoltate cu EDTA pe post de anticoagulant și pentru eșantioanele de urină; utilizarea NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip împreună cu alte tipuri de eșantioane clinice nu a fost evaluată, și caracteristicile de performanță ale testării sunt necunoscute pentru alte tipuri de eșantioane.
- A fost observată o creștere mică a limitei de detecție și a limitei inferioare de cuantificare ale NeuMoDx BKV Quant Assay la utilizarea fluxului de lucru pentru volumul de eșantion de 100 μl.
- Testul NeuMoDx BKV Quant Assay nu trebuie utilizat cu probe de la oameni heparinizați.
- Deoarece detecția BKV depinde de numărul de organisme prezente în probă, rezultatele de încredere depind de recoltarea, manipularea și depozitarea adecvate ale eșantioanelor.
- Calibratoarele și substanțele de control externe trebuie să fie procesate conform recomandărilor din prospecte și așa cum vi se solicită de către software-ul NeuMoDx™ System înainte de procesarea probelor clinice de rutină.
- Rezultatele eronate pot apărea din recoltarea, manipularea și depozitarea inadecvate ale eșantioanelor, din erori tehnice sau din încercarea eprubetelor pentru eșantioane. În plus, pot apărea rezultate fals negative din cauză că numărul de particule virale din probă este sub limita de detecție a NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- Utilizarea NeuMoDx™ System se limitează la utilizarea de către personalul instruit în utilizarea NeuMoDx™ System.
- Dacă ținta BKV și ținta SPC1 nu se amplifică, va fi raportat un rezultat nevalid (Indeterminate (Neconcludent), No Result (Niciun rezultat) sau Unresolved (Nerezolvat)), iar testarea trebuie repetată.
- Dacă rezultatul NeuMoDx™ BKV Quant Assay este Positive (Pozitiv), dar valoarea de cuantificare depășește limitele de cuantificare, NeuMoDx™ System va raporta dacă BKV detectat a fost mai mic decât limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) sau mai mare decât limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- În eventualitatea în care BKV detectat a fost mai mic decât LLoQ, NeuMoDx™ BKV Quant Assay poate fi repetat (dacă se dorește) cu o altă parte alicotă a eșantionului.
- În eventualitatea în care BKV detectat este mai mare decât ULoQ, NeuMoDx™ BKV Quant Assay poate fi repetat cu o parte alicotă diluată a eșantionului original. Se recomandă o diluție 1:1000 în plasmă negativă la BKV sau în BaseMatrix 53 Diluent (BaseMatrix) (SeraCare, Milford, MA). Concentrația eșantionului original poate fi calculată după cum urmează:

$$\text{Concentrația eșantionului original} = \log_{10}(\text{factor de diluție}) + \text{concentrația raportată a probei diluate.}$$

- Prezența ocazională a inhibitorilor PCR în plasmă/ser sau urină poate duce la o eroare de cuantificare a sistemului; dacă se întâmplă acest lucru, se recomandă repetarea testării cu același eșantion diluat în BaseMatrix la 1:10 sau 1:100.
- Un rezultat pozitiv nu indică neapărat prezența organismelor viabile. Cu toate acestea, un rezultat pozitiv presupune prezența ADN-ului BKV.
- Deleția sau mutațiile din regiunile conservate vizate de NeuMoDx™ BKV Quant Assay pot afecta detecția sau pot genera un rezultat eronat folosind NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Rezultatele obținute din NeuMoDx™ BKV Quant Assay trebuie utilizate ca anexe la observațiile clinice și la alte informații disponibile medicului; testarea nu este destinată diagnosticării infecției.
- Bunele practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipulările eșantioanelor pacienților, se recomandă pentru evitarea contaminării.

PROCESAREA REZULTATELOR

Rezultatele disponibile pot fi vizualizate sau imprimate din fila „Results” (Rezultate) în fereastra Results (Rezultate) pe ecranul tactil al NeuMoDx™ System.

Rezultatele NeuMoDx™ BKV Quant Assay sunt generate automat de software-ul NeuMoDx™ System utilizând algoritmul de decizie și parametrii de procesare a rezultatelor specificați în fișierul de definiție a testului NeuMoDx™ BKV (BKV Assay Definition File, BKV ADF). Un rezultat NeuMoDx™ BKV Quant Assay poate fi raportat ca Negative (Negativ), Positive (Pozitiv) cu o concentrație BKV raportată, Positive (Pozitiv) mai mare decât ULoQ, Positive (Pozitiv) mai mic decât LLoQ, Indeterminate (Neconcludent) (IND), Unresolved (Nerezolvat) (UNR) sau No Result (Niciun rezultat) (NR), în funcție de stadiul de amplificare al țintei și al substanței de control pentru procesarea probei. Rezultatele sunt raportate pe baza algoritmului de decizie, sintetizat mai jos în *Tabelul 1*.

Tabelul 1: Sumarul algoritmului de decizie NeuMoDx BKV Quant Assay

Rezultat	BKV	Substanță de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1)	Interpretarea rezultatelor
Positive (Pozitiv) cu concentrație raportată	Amplified (Amplificat) $1,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flux de lucru 550 μl)* $2,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flux de lucru 100 μl)*	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN BKV detectat în intervalul cantitativ
Positive (Pozitiv), mai mare decât limita superioară de cuantificare [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]	Amplified (Amplificat) $[BKV] > 8,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN BKV detectat peste intervalul cantitativ
Positive (Pozitiv), mai mic decât limita inferioară de cuantificare [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]	Amplified (Amplificat) $[BKV] < 1,3 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flux de lucru 550 μl)* $[BKV] < 2,3 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flux de lucru 100 μl)*	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN BKV detectat sub intervalul cantitativ
Negative (Negativ)	Not Amplified (Neamplificat)	Amplified (Amplificat)	ADN BKV nedetectat
Indeterminate (Neconcludent)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Neamplificat, Eroare de sistem detectată, Procesarea probelor finalizată)		Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba†
No Result (Niciun rezultat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Neamplificat, Eroare de sistem detectată, Procesarea probelor abandonată)		Procesarea probei a fost abandonată; retestați proba†
Unresolved (Nerezolvat)	Not Amplified, No System Error Detected (Neamplificat, Nu s-au observat erori de sistem)		Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba†

*Fluxul de lucru pentru 550 μl este utilizat cu eșantioane de plasmă/ser și urină. Fluxul de lucru pentru 100 μl este utilizat numai cu eșantioane de plasmă/ser.

†NeuMoDx System este echipat cu funcția automată Rerun/Repeat (Repetarea execuției/Repetare) pe care utilizatorul final poate alege să o folosească pentru a se asigura că un rezultat IND/NR/UNR (NECONCLUDENT/NICIUN REZULTAT/NEREZOLVAT) este reprocesat automat pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.

Calculul pentru testare

- Pentru probele aflate în intervalul de cuantificare al NeuMoDx™ BKV Quant Assay, concentrația de ADN BKV din probe este calculată utilizând curba standard stocată împreună cu coeficientul de calibrare și cu volumul eșantionului.
 - Un coeficient de calibrare se calculează pe baza rezultatelor NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit procesate, pentru a stabili validitatea curbei standard, pentru un anumit lot de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, pe un anumit sistem NeuMoDx™ System.
 - Coeficientul de calibrare este încorporat în determinarea finală a concentrației de ADN BKV.
 - Software-ul NeuMoDx ia în calcul volumul de intrare al eșantionului la determinarea concentrației de ADN BKV pe ml de eșantion.
- Rezultatele NeuMoDx™ BKV Quant Assay sunt raportate în $\log_{10} \text{ UI/ml}$.
- Cuantificarea rezultată a probelor necunoscute poate fi urmărită în conformitate cu Primul standard internațional al OMS pentru virusul BK (BK Virus, BKV) (14/212)⁹.

Calibrarea testării

Este necesară o calibrare validă, pe baza curbei standard, pentru a cuantifica ADN-ul BKV în eșantioane. Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie efectuată o calibrare a testării, utilizând calibratoarele furnizate de NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Calibratoare

1. Calibratoarele NeuMoDx™ BKV Calibrator sunt furnizate într-un kit (REF 800600) și sunt compuse dintr-un pelet deshidratat de ADN BKV sintetic.
2. Cu fiecare lot nou de bandete NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip trebuie procesat câte un set de calibratoare BKV, dacă un fișier de definiție a testului BKV nou este încărcat în NeuMoDx™ System, dacă setul curent de calibratoare a depășit perioada de validitate (setată în prezent la 90 de zile) sau dacă software-ul NeuMoDx™ System este modificat.
3. Software-ul NeuMoDx™ System va anunța utilizatorul cu privire la momentul în care trebuie procesate calibratoarele; nu poate fi folosit pentru testare un lot nou de bandete de testare dacă procesarea calibratoarelor nu a reușit.
4. Dacă trebuie procesat un nou set de calibratoare BKV, citiți toate instrucțiunile incluse în prospectul NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit înainte de a efectua testarea.
5. Validitatea pentru calibrare se stabilește după cum urmează:
 - a) Un set de două calibratoare - puternice și slabe - trebuie procesat pentru stabilirea validității.
 - b) Pentru generarea unor rezultate valide, cel puțin 2 din cele 3 replicare trebuie să ofere rezultate în parametrii predefiniți. Ținta nominală cu calibrator slab este $3 \log_{10}$ UI/ml, iar ținta nominală cu calibrator puternic este $5 \log_{10}$ UI/ml.
 - c) Se calculează un coeficient de calibrare pentru a ține cont de variația preconizată între loturile de bandete de testare; acest coeficient de calibrare este utilizat pentru determinarea concentrației finale de BKV.
6. Dacă unul sau ambele calibratoare eșuează în verificarea validității, repetați procesarea calibratorului eșuat (calibratoarelor eșuate) utilizând un flacon nou. În eventualitatea în care un calibrator eșuează în verificarea validității, este posibilă doar repetarea calibratorului eșuat, deoarece sistemul nu impune ca utilizatorul să ruleze din nou ambele calibratoare.

Controlul calității

Reglementările locale specifică de obicei faptul că laboratorul este responsabil pentru procedurile de control care monitorizează acuratețea și precizia procesului analitic complet, și trebuie să stabilească numărul, tipul și frecvența testării materialelor de control utilizând specificații de performanță verificate pentru un sistem de testare aprobat și nemodificat.

Substanțe de control externe

1. Substanțele de control externe BKV sunt furnizate de NeuMoDx Molecular, Inc. în BKV External Control Kit (REF900601). Substanțele de control pozitive conțin un pelet deshidratat de ADN BKV sintetic.
2. Substanțele de control externe pozitive și negative trebuie procesate o dată la 24 de ore. Dacă nu există un set de substanțe de control externe valide, software-ul NeuMoDx™ System va solicita utilizatorului procesarea acestor substanțe de control înainte să poată fi raportate rezultatele probelor.
3. Dacă sunt necesare substanțe de control externe, pregătiți substanțele de control pozitive și negative, așa cum este indicat în prospectul NeuMoDx BKV External Control Kit înainte de a efectua testarea.
4. Utilizând ecranul tactil și un suport de eprubete pentru eșantioane amplasat pe raftul încărcătorului automat, încărcați flacoanele cu substanță de control pozitivă și negativă în NeuMoDx™ System. NeuMoDx™ System va recunoaște codul de bare și va începe procesarea eprubetelor pentru eșantioane, dacă nu sunt disponibili/e reactivii sau consumabilele necesare pentru testare.
5. Validitatea substanțelor de control externe va fi evaluată de NeuMoDx™ System în funcție de rezultatul preconizat. Substanța de control pozitivă trebuie să genereze un rezultat Positive (Pozitiv) la BKV, iar substanța de control negativă trebuie să genereze un rezultat Negative (Negativ) la BKV.
6. Manipularea rezultatelor contradictorii pentru substanțele de control externe trebuie făcută astfel:
 - a) Un rezultat Positive (Pozitiv) al testării raportat pentru o probă cu substanță de control negativă indică o problemă de contaminare a eșantionului.
 - b) Un rezultat Negative (Negativ) al testării raportat pentru o probă cu substanță de control pozitivă poate indica faptul că există o problemă legată de reactiv sau de instrument.
 - c) În oricare dintre situațiile de mai sus sau în cazul unui rezultat Indeterminate (Neconcludent) (IND) sau No Result (Niciun rezultat) (NR), repetați procesul pentru substanțele de control externe NeuMoDx™ BKV External Control eșuate cu flacoane noi cu substanțele de control care au eșuat în testarea validității.
 - d) Dacă substanța de control externă NeuMoDx™ BKV External Control pozitivă continuă să raporteze un rezultat Negative (Negativ), contactați departamentul de relații cu clienții NeuMoDx™.
 - e) Dacă substanța de control externă NeuMoDx™ BKV External Control negativă continuă să raporteze un rezultat Positive (Pozitiv), încercați să eliminați toate sursele de posibilă contaminare, inclusiv înlocuirea TUTUROR reactivilor, înainte de a contacta departamentul de relații cu clienții NeuMoDx™.

Substanțe de control (interne) pentru procesarea probei

O substanță de control exogenă pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1) este încorporată în NeuMoDx™ Extraction Plate și suferă întregul proces de extracție a acidului nucleic și amplificarea PCR în timp real cu fiecare probă. Soluțiile de amorsare și sonda specifice pentru SPC1 sunt, de asemenea, incluse în fiecare NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip permițând detecția prezenței SPC1 împreună cu ADN-ul BKV țintă (dacă există) prin PCR multiplex în timp real. Detecția amplificării SPC1 îi permite software-ului NeuMoDx™ System să monitorizeze eficacitatea proceselor de extracție ADN și amplificarea PCR.

Rezultate nevalide

Dacă un test NeuMoDx™ BKV Quant Assay efectuat pe NeuMoDx™ System nu produce un rezultat valid, acesta va fi raportat ca Indeterminate (Neconcludent) (IND), No Result (Niciun rezultat) (NR) sau Unresolved (Nerezolvat) (UNR), în funcție de tipul erorii survenite.

Un rezultat IND va fi raportat dacă este detectată o eroare NeuMoDx™ System în timpul procesării probelor. În cazul în care este raportat un rezultat IND (Neconcludent), se recomandă repetarea testării.

Un rezultat UNR (Nerezolvat) va fi raportat dacă nu este detectată nicio amplificare validă a ADN-ului BKV sau a SPC1, ceea ce indică posibilul eșec al reactivului sau prezența inhibitorilor. În cazul în care este raportat un rezultat UNR (Nerezolvat), testarea poate fi repetată, ca prim pas. Dacă repetarea testării eșuează, poate fi folosit un eșantion diluat pentru a atenua efectele oricărei inhibări a probei.

Dacă un test NeuMoDx BKV Quant Assay efectuat pe NeuMoDx System nu produce un rezultat valid și procesarea probei este abandonată înainte de finalizare, acesta va fi raportat ca No Result (Niciun rezultat) (NR). În cazul în care este raportat un rezultat NR (Niciun rezultat), se recomandă repetarea testării.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

Sensibilitate analitică – limită de detecție¹²

Sensibilitatea analitică a NeuMoDx™ BKV Quant Assay a fost caracterizată prin testarea unei serii de diluție a panelului EDX BKV Verification Panel (Exact Diagnostics), calibrată în raport cu Primul standard internațional al OMS pentru virusul BK (BK Virus, BKV) (14/212)⁹, în probe de plasmă/ser și urină negative la BKV, pentru a determina limita de detecție (Limit of Detection, LoD) pe sistemele NeuMoDx System. Pentru plasmă/ser (550 μl) și urină, LoD a fost definită ca cel mai apropiat nivel țintă, determinat experimental, peste concentrația determinată prin analiza de tip Probit cu interval de încredere (ÎI) 95 %. Pentru plasmă/ser (100 μl), o singură concentrație a probei de 200 UI/ml a fost verificată prin analiza ratei de succes și validată pentru LoD, dacă rata de detecție a fost peste 95 %. Studiul a fost efectuat timp de peste 3 zile pe mai multe sisteme cu loturi multiple de reactivi NeuMoDx™. Fiecare sistem a procesat câte 42 de replicare la fiecare nivel de diluție (probe pozitive) și 8 replicare pentru probe negative pe zi. Ratele de detecție sunt prezentate în *Tabelul 2 și 3*.

Tabelul 2: Rate de detecție pozitive pentru determinarea LoD a NeuMoDx BKV Quant Assay (plasmă/ser 550 μl și urină)

Concentrația țintei [UI/ml]	Concentrația țintei [log ₁₀ UI/ml]	Flux de lucru pentru PLASMĂ/SER 550 μl			URINĂ		
		Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție	Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție
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%

Tabelul 3: Rate de detecție pozitive pentru determinarea LoD a NeuMoDx BKV Quant Assay (plasmă/ser 100 μl)

Concentrația țintei [UI/ml]	Concentrația țintei [log ₁₀ UI/ml]	Flux de lucru pentru PLASMĂ/SER 100 μl		
		Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție
200	2,30	89	88	99%

LoD a NeuMoDx™ BKV Quant Assay în plasmă/ser (flux de lucru 550 μl) s-a determinat a fi 20 UI/ml (1,3 log₁₀ UI/ml) cu un interval de încredere (ÎI) 95 % de 11,03; în urină, LoD s-a determinat a fi 20,0 UI/ml (1,3 log₁₀ UI/ml) cu un interval de încredere (ÎI) 95 % de 13,09; în plasmă/ser (flux de lucru 100 μl), LoD s-a determinat a fi 200 UI/ml (2,3 log₁₀ UI/ml).

Sensibilitate analitică – Limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) și limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

Limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) și limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) sunt definite ca cel mai mic nivel al țintei și cel mai mare nivel al țintei la care se obține o detecție > 95 % și TAE ≤ 1,0. Pentru a determina LLoQ și ULoQ, eroarea analitică totală (Total Analytical Error, TAE) a fost calculată pentru fiecare dintre nivelurile țintei BKV pentru care s-a demonstrat că raportează o detecție > 95 %. TAE este definită după cum urmează:

$$TAE = \text{abatere} + 2 * SD \text{ [Statistică Westgard]}$$

Abateră este valoarea absolută a diferenței dintre media concentrației calculate și a concentrației preconizate. SD se referă la abaterea standard a valorii cuantificate a probei.

Rezultatele compilate pentru cele 5 niveluri ale eșantioanelor de plasmă/ser sau urină BKV folosite în studiul LLoQ/ULOQ sunt prezentate în *Tabelul 4 și 5*. Pe baza acestui set de date și a LoD determinată anterior, s-a stabilit că LLoQ și ULOQ sunt de 20 UI/ml ($1,3 \log_{10}$ UI/ml) și, respectiv, de $7,58 \times 10^7$ UI/ml (aici, aproximată la $8 \log_{10}$ UI/ml), pentru plasmă/ser 550 μ l și urină și 200 UI/ml ($2,3 \log_{10}$ UI/ml) pentru plasmă/ser 100 μ l.

Tabelul 4: Valorile ULOQ și LLoQ pentru NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, cu abatere și TAE (plasmă/ser 550 μ l și urină)

Conc. țintă [UI/ml]	Conc. țintă [\log_{10} UI/ml]	Plasmă/ser 550 μ l					Urină				
		Conc. medie [\log_{10} UI/ml]	Deteție (%)	SD	Abatere	TAE	Conc. medie [\log_{10} UI/ml]	Deteție (%)	SD	Abatere	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

Tabelul 5: Valorile ULOQ și LLoQ pentru NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, cu abatere și TAE (plasmă/ser 100 μ l)

Conc. țintă [UI/ml]	Conc. țintă [\log_{10} UI/ml]	Plasmă/ser 100 μ l				
		Conc. medie [\log_{10} UI/ml]	Deteție (%)	SD	Abatere	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

Pe baza rezultatului acestor studii, valorile LoD și LLoQ ale NeuMoDx™ BKV Quant Assay au fost determinate a fi 20 UI/ml ($1,3 \log_{10}$ UI/ml) pentru plasmă/ser și urină cu fluxul de lucru pentru 550 μ l și 200 UI/ml ($2,30 \log_{10}$ UI/ml) pentru plasmă/ser la utilizarea fluxului de lucru pentru 100 μ l. Valoarea ULOQ pentru toate tipurile de eșantioane este de $7,58 \times 10^7$ UI/ml ($8 \log_{10}$ UI/ml).

Liniaritatea ¹³

Liniaritatea NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip a fost stabilită în plasmă/ser și urină prin prepararea unei serii de diluție folosind BKV Synthetic Plasmid (Integrated DNA Technologies) cu o trasabilitate stabilită în conformitate cu Primul standard internațional al OMS pentru virusul BK (BK Virus, BKV) (14/212)⁹. 11 diluții seriale de BKV Synthetic Plasmid, pregătite în BaseMatrix 53 negativ la BKV sau urină umană comasată negativă la BKV au fost create pentru a acoperi un interval de concentrații cuprins între 7,88 și $1,58 \log_{10}$ UI/ml pentru plasmă/ser 550 μ l și urină, și un interval de concentrații cuprins între 6,88 și $2,88 \log_{10}$ UI/ml pentru plasmă/ser 100 μ l.

Concentrațiile analizei BKV raportate de NeuMoDx™ System comparativ cu valorile preconizate sunt prezentate în *Figurile 2, 3 și 4*.

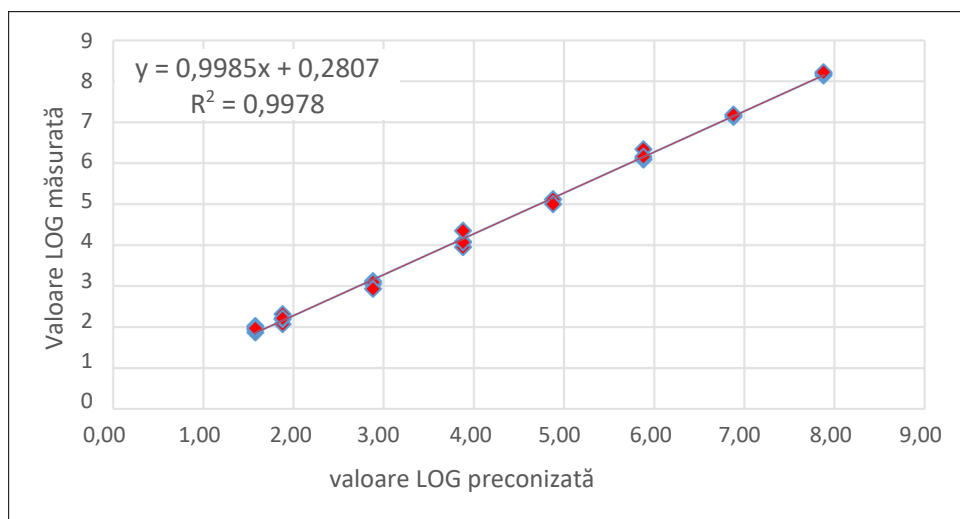


Figura 2: Liniaritatea NeuMoDx™ BKV Quant Assay pentru plasmă/ser (flux de lucru 550 μ l)

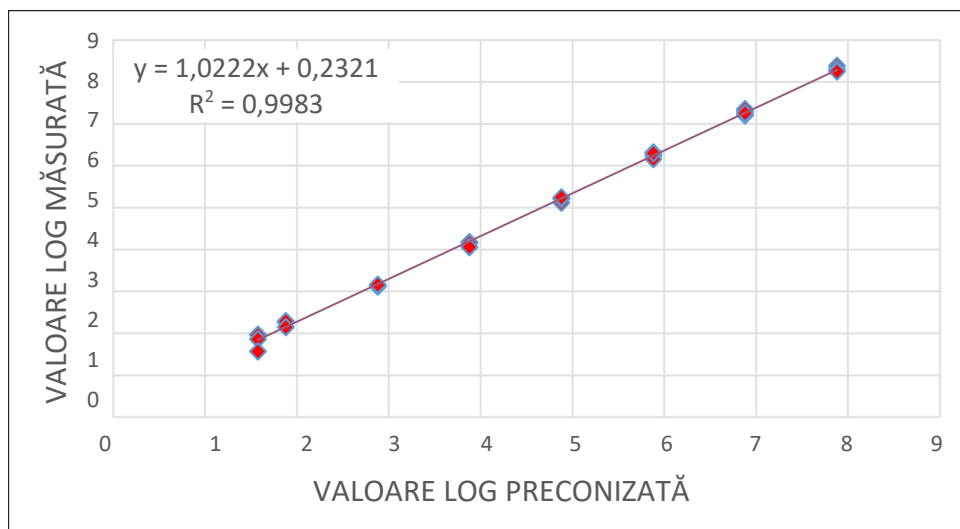


Figura 3: Liniaritatea NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip pentru eșantioane de urină

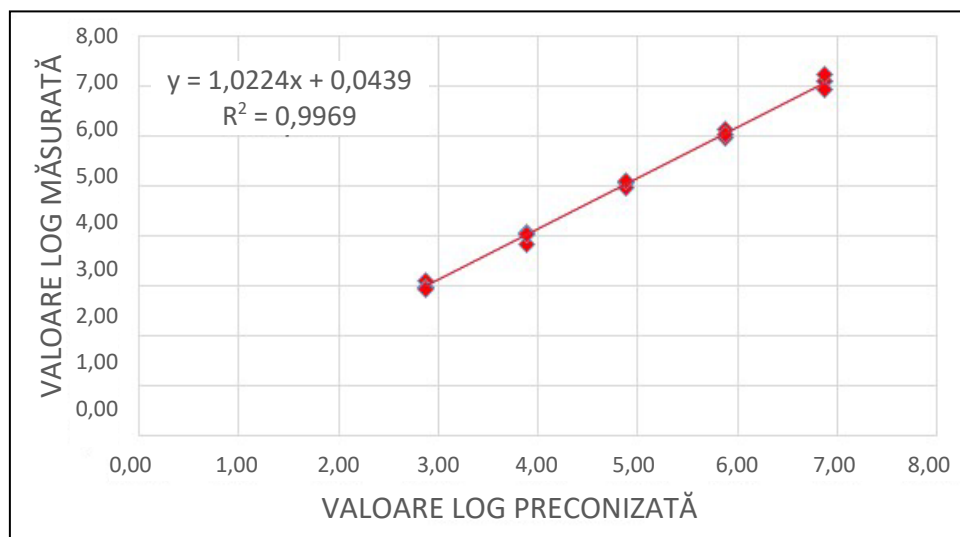


Figura 4: Liniaritatea NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip pentru plasmă/ser (flux de lucru 100 µl)

Liniaritatea între genotipuri¹⁶

Liniaritatea testului NeuMoDx BKV Quant Assay între trei genotipuri BKV (virusul BK Dunlop, virusul BK Gardner, virusul BK AB269822_FIN-2) a fost caracterizată prin testarea a patru concentrații diferite ale fiecărui genotip de BKV preparat în BaseMatrix 53 negativ la BKV. Genotipul virusului BK S72390 nu prezintă polimorfisme în regiunea țintă a genei, acoperită de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip. Studiul a fost efectuat prin testarea a 4 replicare ale fiecăruia dintre cele 3 genotipuri la 6 concentrații (serie de diluție 10x). Liniaritatea între trei genotipuri BKV este prezentată în Tabelul 6 și Figura 5.

Tabelul 6: Liniaritatea NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip între genotipuri

Genotip	Ecuția liniarității y = Ct NeuMoDx BKV Assay x = serie de diluție	R ²
Virusul BK Dunlop	y = -3,4808x + 0,8595	0,9926
Virusul BK Gardner	y = -3,4682x + 0,6395	0,9959
Virusul BK AB269822_FIN-2	y = -3,432x + 1,2683	0,9947

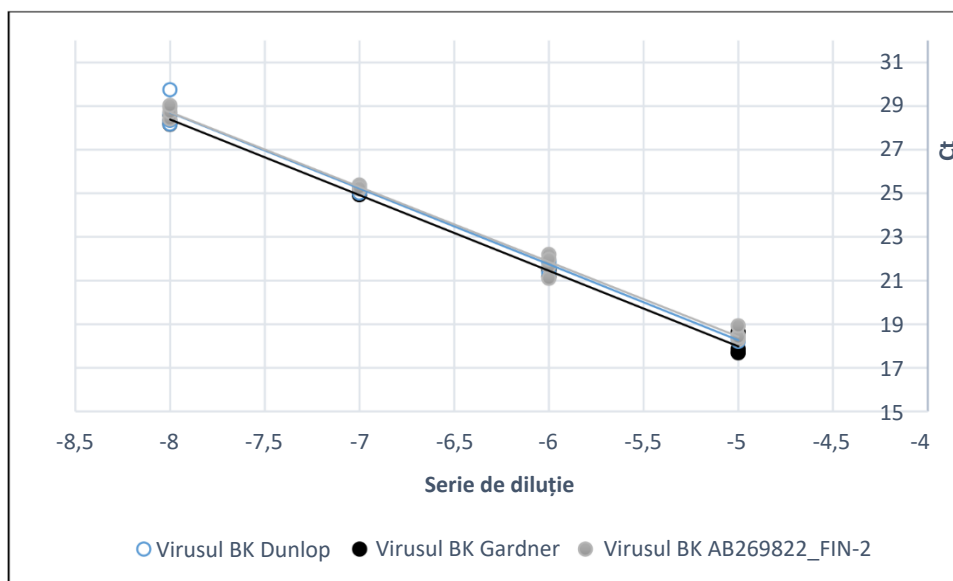


Figura 5: Liniaritatea NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip între genotipurii

Specificitate analitică – Reactivitate încrucișată ^{10,11}

Specificitatea analitică a fost demonstrată prin screeningul a 22 de organisme frecvent întâlnite în eșantioane de plasmă/ser sau urină, precum și a unor specii asemănătoare filogenetic cu BKV pentru reactivitate încrucișată. Organismele au fost pregătite în surse de câte 5-6 organisme și testate la o concentrație ridicată. Organismele testate sunt prezentate în *Tabelul 7*. Nu s-a observat reactivitate încrucișată la niciunul dintre organismele testate, confirmând o specificitate analitică 100 % pentru NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Tabelul 7: Agenți patogeni utilizați pentru a demonstra specificitatea analitică

Organisme non-țintă					
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>	Virusul hepatitei B	Adenovirus tip 5	Virusul Epstein-Barr	Virusul varicelo-zosterian	Virusul hepatitei C
Virusul Herpes Simplex tip 1	Virusul Herpes Simplex tip 2	Virusul herpetic uman tip-6	Virusul herpetic uman tip-7	Virusul herpetic uman tip-8	Virusul imunodeficienței umane 1
Virusul imunodeficienței umane 2	Virusul JC	SV40	<i>Citomegalovirus</i>		

Specificitate analitică – Substanțe de interferență, organisme comensale ^{10,11}

NeuMoDx™ BKV Quant Assay a fost evaluat pentru interferență în prezența organismelor non-țintă, utilizând aceleași surse de organisme pregătite pentru testarea reactivității încrucișate, enumerate mai sus în *Tabelul 7*. Plasma negativă la BKV a fost îmbogățită cu organismele comensale în grupuri de 5-6 și a fost îmbogățită, de asemenea, cu țintă BKV la o concentrație de 4 log₁₀ UI/ml. Nu s-a observat nici o interferență semnificativă în prezența acestor organisme comensale, așa cum este indicat de abaterea minimă de cuantificare față de eșantioanele de substanță de control care nu au conținut niciun agent de interferență.

Specificitate analitică – Substanțe de interferență, substanțe endogene și exogene ^{10,11}

NeuMoDx™ BKV Quant Assay a fost evaluat în prezența substanțelor de interferență exogene și endogene tipice întâlnite la eșantioanele clinice de plasmă/ser sau urină BKV. Acestea au inclus niveluri anormal de ridicate ale componentelor sanguini sau de urină, precum și medicamente antivirale comune, care sunt clasificate în *Tabelul 8*. Fiecare substanță a fost adăugată în BaseMatrix 53 testat prin screening negativ la BKV sau urină umană îmbogățită cu 3 log₁₀ UI/ml BKV, iar probele au fost analizate pentru interferență. Concentrația medie și abaterea tuturor substanțelor testate în comparație cu probele de control îmbogățite cu același nivel de BKV sunt raportate în *Tabelul 9*. Niciuna dintre substanțele exogene și endogene nu a afectat specificitatea NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Tabelul 8: Testarea interferenței - Agenți exogeni (clasificări pentru medicamente)

Sursă	Denumire medicament	Clasificare
Sursa 1	Valganciclovir	ANTIVIRAL
	Prednison	IMUNOSUPRESOR
	Cidofovir	ANTIVIRAL
	Cefotaximă	ANTIBIOTIC
	Micofenolat mofetil	IMUNOSUPRESOR
Sursa 2	Vancomicină	ANTIBIOTIC
	Tacrolimus	IMUNOSUPRESOR
	Famotidină	ANTAGONIST AL HISTAMINEI
	Valaciclovir	ANTIVIRAL
	Leflunomidă	IMUNOSUPRESOR

Tabelul 9: Testarea interferenței - Agenți exogeni și endogeni

Endogen (plasmă/ser)	Conc. medie	Abatere
	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Trigliceride 500 mg/dl	3,09	0,16
Bilirubină conjugată (0,25 g/l)	3,09	0,16
Bilirubină neconjugată (0,25 g/l)	3,31	-0,06
Albumină (58,7 g/l)	3,12	0,13
Hemoglobină (2,9 g/l)	3,02	0,23
Endogen (urină)	Conc. medie	Abatere
	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Urobilirubină (> 2 mg/dl)	3,74	-0,09
Glucoză (1000 mg/dl)	4,00	0,04
Urină pH 4	3,75	0,29
Urină pH 10	3,77	0,27
Leucocite (1E5 celule/ml)	3,68	-0,06
Sânge 7 %	3,42	-0,32
Proteină (albumină > 100 mg/dl)	3,96	0,08
Pudră de talc	3,92	0,12
Exogeni (medicamente)	Conc. medie	Abatere
	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Sursa 1: Valganciclovir, Prednison, Cidofovir, Cefotaximă, Micofenolat mofetil	4,04	-0,06
Sursa 2: Vancomicină, Tacrolimus, Famotidină, Valaciclovir, Leflunomidă	4,07	-0,09

Repetabilitate și precizie în laborator¹⁴

Precizia NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip a fost determinată prin testarea a 2 replicare ale unui panel de 5 elemente de eșantioane BKV pregătite cu plasmidă BKV de două ori pe zi, utilizând un sistem NeuMoDx™ 96 System timp de 20 de zile. Au fost caracterizate precizia în cadrul rulării și precizia din timpul zilei, și abaterea standard globală s-a determinat a fi $\leq 0,30 \log_{10}$ UI/ml. Precizia excelentă a fost demonstrată în toate zilele și în toate execuțiile, după cum se arată în *Tabelul 10*. Precizia la nivelul operatorilor nu a fost caracterizată, deoarece operatorul nu joacă un rol semnificativ în procesarea probelor utilizând NeuMoDx™ System.

Tabelul 10: Precizie în laborator – NeuMoDx BKV Quant Assay pe sisteme NeuMoDx System

Probă	Abatere standard în timpul zilei (\log_{10} UI/ml)	Abatere standard între zile (\log_{10} UI/ml)	Abatere standard în execuție (\log_{10} UI/ml)	Abatere standard între execuții (\log_{10} UI/ml)	Abatere standard în laborator (\log_{10} UI/ml)
Eșantion de plasmă/ser (intrare 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
Eșantion de urină					
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

Reproductibilitatea de la un lot la altul¹⁴

Reproductibilitatea de la un lot la altul a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip a fost determinată utilizând trei loturi diferite de bandetele NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip. Un panel de 5 elemente de BKV preparat cu plasmidă BKV a fost utilizat pentru a evalua performanța pe un NeuMoDx™ 96 Molecular System în cadrul a 3 execuții separate. Variația în lot și între loturi a fost analizată, iar rezultatele au fost exprimate ca abatere de cuantificare absolută între loturi, prezentate în *Tabelul 11*. Abaterea totală maximă a fost $0,27 \log_{10}$ UI/ml. Performanța echivalentă a fost demonstrată între loturi, deoarece cuantificarea tuturor elementelor panelului s-a încadrat în specificațiile de toleranță.

Tabelul 11: Reproducibilitatea de la un lot la altul – NeuMoDx BKV Quant Assay

Probă	Abaterea absolută între Lot.1 și Lot.2 (\log_{10} UI/ml)	Abaterea absolută între Lot.1 și Lot.3 (\log_{10} UI/ml)	Abaterea absolută între Lot.2 și Lot.3 (\log_{10} UI/ml)
Eșantion de plasmă/ser (550 μl)			
7 \log_{10} UI/ml	0,05	0,10	0,05
4 \log_{10} UI/ml	0,02	0,03	0,05
3 \log_{10} UI/ml	0,20	0,05	0,15
2 \log_{10} UI/ml	0,02	0,24	0,26
0 \log_{10} UI/ml	0,00	0,00	0,00
Eșantion de urină (550 μl)			
7 \log_{10} UI/ml	0,09	0,27	0,19
4 \log_{10} UI/ml	0,25	0,06	0,19
3 \log_{10} UI/ml	0,06	0,08	0,14
2 \log_{10} UI/ml	0,03	0,11	0,14
0 \log_{10} UI/ml	0,00	0,00	0,00

Reproductibilitatea de la un instrument la altul¹⁴

Reproductibilitatea de la un instrument la altul a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip a fost determinată utilizând trei sisteme diferite (două NeuMoDx™ 288 Molecular System și un NeuMoDx™ 96 Molecular System). Un panel de 5 elemente de BKV preparat cu plasmidă BKV a fost utilizat pentru a evalua performanța. Testarea a fost efectuată în paralel pe sisteme timp de 5 zile. Au fost caracterizate variația din timpul zilei și variația între sisteme, și abaterea standard globală s-a determinat a fi $\leq 0,30 \log_{10}$ UI/ml. Performanța echivalentă a fost demonstrată între sisteme, deoarece abaterea standard (Standard Deviation, SD) în cuantificarea tuturor elementelor panelului s-a încadrat în specificațiile de toleranță (Tabelul 12).

Tabelul 12: Reproductibilitatea de la un instrument la altul – NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

Probă	Abatere standard repetabilitate (\log_{10} UI/ml)	Abatere standard între zile (\log_{10} UI/ml)	Abatere standard în instrument (\log_{10} UI/ml)	Abatere standard între instrumente (\log_{10} UI/ml)	Abatere standard reproductibilitate (\log_{10} UI/ml)
Eșantion de plasmă/ser (intrare 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
Eșantion de urină					
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

REFERINȚE

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.

MĂRCI COMERCIALE















NeuMoDx™ este marcă comercială a NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® este marcă comercială înregistrată a Roche Molecular Systems, Inc.

STAT-NAT® este marcă comercială înregistrată a SENTINEL CH. S.p.A.

Toate celelalte nume de produse, mărci comerciale și mărci comerciale înregistrate care pot apărea în acest document sunt deținute de proprietarii respectivi.

SIMBOLURI

SIMBOL	SEMNIFICAȚIE
	Doar pe bază de rețetă
	Producător
	Distribuitor
	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Număr de catalog
	Cod lot
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	Atenție, consultați documentele însoțitoare
	Limitare de temperatură
	A se păstra într-un loc uscat
	A nu se reutiliza
	A nu se expune la lumină
	Conține suficient pentru <n> (de) testări
	Data de expirare



SENTINEL CH. S.p.A.
Via Robert Koch, 2
20152 Milano, Italy

www.sentineldiagnostics.com



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

+1 888 301 NMDX (6639)
techsupport@neumodx.com

Raportarea vigilenței: www.neumodx.com/contact-us

Brevet: www.neumodx.com/patents