

BKV Quant Assay (Panther Fusion® System)

Zur *In-vitro*-Diagnostik

Nur zum US-Export

INHALT

Allgemeine Informationen	2
Verwendungszweck	2
Zusammenfassung und Testerklärung	2
Verfahrensprinzipien	2
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	4
Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien	6
Entnahme, Bearbeitung und Lagerung von Patientenproben	7
Auf dem Panther Fusion System gelagerte Proben	9
Transport von Patientenproben	9
Panther Fusion System	10
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien für Panther Fusion BKV Quant Assay	10
Erforderliche und nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	11
Optionale Materialien	12
Testverfahren mit dem Panther Fusion System	12
Verfahrenshinweise	17
Qualitätskontrolle	18
Assay-Kalibrierung	18
Negativ- und Positivkontrollen	18
Interne Kontrolle	19
Interpretation der Ergebnisse	20
Einschränkungen	21
Leistung	22
Nachweisgrenze mit dem 1. internationalen WHO-Standard	22
Linearer Bereich	23
Untere Quantifizierungsgrenze mit dem 1. Internationalen WHO-Standard	24
Bestimmung der unteren Qualifizierungsgrenze bei BKV-Genotypen	26
Rückführbarkeit auf den 1. internationalen WHO-Standard	27
Innerhalb der Laborpräzision	28
Mögliche interferierende Substanzen	29
Analytische Spezifität	31
Methodenkorrelation	32
Verschleppung/Kreuzkontamination	33
Literatur	34
Kontaktinformationen und Änderungsprotokoll	35

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der Panther Fusion® BKV Quant Assay ist ein vollautomatischer Echtzeit-PCR(RT-PCR)-*In-vitro*-Nukleinsäure-Amplifikationstest für die Quantifizierung der DNA des humanen BK-Virus (BKV) in menschlichen Plasma- und Urinproben.

Der Panther Fusion BKV Quant Assay ist als Hilfsmittel für die Diagnose sowie bei der Behandlung von Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen und Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation vorgesehen.

Der Panther Fusion BKV Quant Assay ist nicht für die Verwendung als Screening-Assay auf das Vorhandensein von BKV im Plasma oder Urin bestimmt. Dieser Assay ist für die Verwendung mit dem Panther Fusion System konzipiert.

Zusammenfassung und Testerklärung

BKV ist ein weit verbreitetes kleines, unbehülltes Virus mit einem geschlossenen, zirkulären, doppelsträngigen DNA-Genom. BKV ist ein Polyomavirus, der zur Familie der Papovaviren gehört.

Die primäre Exposition gegenüber BKV erfolgt in der Kindheit, so dass 80 bis 90 % der Erwachsenen Antikörper gegen BKV entwickelt haben. Die Mehrzahl der Primärinfektionen mit BKV verläuft asymptomatisch oder mit minimalen Symptomen. Es wird angenommen, dass das Virus nach der Primärinfektion latent im Harntrakt verbleibt, ohne dass sich bei immunkompetenten Personen eine Krankheit manifestiert.¹

Eine virale Reaktivierung tritt bei immungeschwächten Personen auf und kommt häufig bei Nierentransplantationspatienten und Patienten mit hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSCT) vor. Bei Nierentransplantationspatienten ist die BKV-Reaktivierung mit Nephropathie (BKV-N) und Ureterstenose verbunden. BKV-N tritt bei etwa 5 % der Nierentransplantationspatienten innerhalb eines Jahres nach der Transplantation auf. Die BKV-Reaktivierung ist für HSCT-Empfänger von Bedeutung, da eine spät einsetzende hämorrhagische Zystitis bei 6 bis 29 % der Patienten innerhalb von 2 Monaten nach der Transplantation auftritt.²

Die quantitative Nukleinsäure-Amplifikationstestung mit Plasma- oder Urinproben ist ein wichtiger Labormarker für die Diagnose und Überwachung von BKV-Infektionen bei Transplantatempfängern. Aktuelle Leitlinien empfehlen, nierentransplantierte Patienten nach der Transplantation regelmäßig auf BKV-DNA-Spiegel im Plasma zu untersuchen, um Patienten zu erkennen, die für eine präventive Behandlung der Nephropathie in Frage kommen. Bei hohen festgestellten BKV-DNA-Konzentrationen im Plasma oder Urin besteht ein erhöhtes Risiko, eine BKV-N zu entwickeln, sie kann aber auch bei Patienten mit niedrigeren BKV-Konzentrationen auftreten.^{3,4}

Verfahrensprinzipien

Auf dem Panther Fusion System wird die gesamte Probenbearbeitung einschließlich Zytolyse, Nukleinsäure-Capture, Amplifikation und Nachweis für den Panther Fusion BKV Quant Assay vollständig automatisch ausgeführt. Der Panther Fusion EBV Quant Assay zielt auf die hoch konservierten VP2-Gene ab, um eine präzise Quantifizierung der BKV-DNA sicherzustellen. Der Assay ist auf den 1. internationalen WHO-Standard (NIBSC-Code: 14/212) für BKV standardisiert.⁵

Probenbearbeitung und Nukleinsäure-Capture: Eine interne Kontrolle (IC-B) wird jeder Probe automatisch über das Fusion Capture Arbeitsreagenz-B (wFCR-B) zur Überwachung hinsichtlich Interferenzen während der Probenbearbeitung, Amplifikation und dem Nachweis hinzugefügt, die durch ein Versagen der Reagenzien oder der inhibitorischen Substanzen verursacht werden. Die Patientenproben werden zuerst dem Fusion-Capture-Reagenz-B (FCR-B) und dem Fusion-Enhancer-Reagenz-B (FER-B) hinzugefügt, um die Nukleinsäure für die Hybridisierung mit Magnetpartikeln freizusetzen. Die eingefangenen Partikel werden durch Waschschriffe mit einem milden Reinigungsmittel in einem Magnetfeld von der Restprobenmatrix getrennt. Die eingefangene Nukleinsäure wird anschließend mithilfe eines Reagenz mit niedriger Ionenstärke (Panther Fusion Elutionspuffer) aus den Magnetpartikeln herausgelöst.

Hinweis: Das Panther Fusion System fügt IC-B zu FCR-B hinzu. Nachdem das IC-B dem FCR-B hinzugefügt wurde, wird es als wFCR-B bezeichnet.

PCR-Amplifikation und Fluoreszenznachweis: Der gefriergetrocknete PCR-Mastermix einer Einheit wird mit dem Panther Fusion Rekonstitutionspuffer I rekonstituiert und dann mit der eluierten Nukleinsäure in einem Reaktionsröhrchen kombiniert. Das Panther Fusion Ölreagenz wird hinzugefügt, um eine Verdampfung während der PCR-Reaktion zu verhindern. Die anschließende PCR-basierte Target-Amplifikation tritt mit Target-spezifischen Vorwärts- und Rückwärtsprimern auf und erzeugt ein Fluoreszenzsignal.

Das Panther Fusion System liefert einen Ct-Wert, der proportional zu der BKV-Konzentration in den Testproben ist. Die Probenkonzentration wird von der Panther Fusion System Software mittels der BKV-Ct-Werte für jede Reaktion und deren Vergleich mit der Kalibrationskurve ermittelt. BKV-Ergebnisse werden für Plasma- und Urinproben in IE/mL und $\log_{10}$ IE/mL angegeben. Wenn der Urin-Umrechnungsfaktor von der Panther Fusion Software ausgewählt wird, erfolgt automatisch die Anwendung eines Verdünnungsfaktors von 2 auf die BKV-Viruslast-Ergebnisse, um den Verdünnungsschritt während der Urinprobenverarbeitung zu berücksichtigen.

Die Targets und die für deren Nachweis verwendeten Kanäle auf dem Panther Fusion System sind in der Tabelle unten zusammengefasst:

Ziel	Zielgen	Gerätekanal
BKV	VP2	ROX
Interne Kontrolle	Nicht zutreffend	Quasar® 705

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- A. Zur *In-vitro*-Diagnostik.
- B. Für den professionellen Einsatz.
- C. Vor Durchführung dieses Assays sind die Packungsbeilage und *Bedienungsanleitung für das Panther®/Panther Fusion System* sorgfältig durchzulesen.
- D. Das Panther Fusion Enhancer-Reagenz-B (FER-B) ist ein Ätzstoff, gesundheitsschädlich beim Verschlucken und verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
- E. Diese Verfahren sollten nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung dieses Assays und in der Handhabung potenziell infektiösen Materials entsprechend geschult sind. Bei Materialverschüttung sind die betroffenen Flächen unter Einhaltung entsprechender vor Ort gültiger Verfahren sofort zu desinfizieren.
- F. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assays sind die allgemein gültigen Vorsichtsmaßnahmen zu befolgen. Der Laborleiter muss die richtigen Handhabungs- und Entsorgungsverfahren festlegen. Es darf nur Personal, das in der Handhabung von infektiösen Materialien geschult wurde, gestattet werden, dieses Diagnoseverfahren auszuführen.⁶
- G. Die normalen Vorsichtsmaßnahmen im Labor ergreifen. Nicht mit dem Mund pipettieren. In den ausgewiesenen Arbeitsbereichen nicht essen, trinken oder rauchen. Beim Umgang mit Proben und Reagenzien ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel tragen. Nach dem Umgang mit Proben und Reagenzien die Hände gründlich waschen.
- H. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.
- I. Arbeitsflächen, Pipetten und andere Geräte müssen regelmäßig mit einer 2,5-%igen bis 3,5-%igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden.
- J. Sämtliches Material, das mit den Proben und Reagenzien in Kontakt gekommen ist, gemäß den geltenden regionalen, nationalen und internationalen Vorschriften entsorgen.
- K. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerungsbedingungen aufrechterhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht untersucht.
- L. Kreuzkontamination während der Probenhandhabungsschritte vermeiden. Insbesondere ist darauf zu achten, beim Lösen oder Entfernen von Kappen von Patientenproben eine Kontamination durch Verbreitung von Aerosolen zu vermeiden. Die Proben können sehr hohe Konzentrationen von Viren oder anderen Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Die Handschuhe wechseln, wenn diese mit Proben in Kontakt kommen.
- M. Reagenzien, Kalibratoren und Kontrollen nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Das Aptima® Urinproben-transportröhrchen nach seinem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- N. Die Assay-Bestandteile unter den empfohlenen Lagerungsbedingungen aufbewahren. Siehe *Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien und Testverfahren mit dem Panther Fusion System* für weitere Informationen.

- O. Assayreagenzien oder Flüssigkeiten nicht miteinander kombinieren. Reagenzien oder Flüssigkeiten nicht nachfüllen; das Panther Fusion System verifiziert den Füllstand der Reagenzien.
- P. Eine Kontamination der Reagenzien mit Mikroben oder Nuklease ist zu vermeiden.
- Q. Qualitätskontrollanforderungen sind in Übereinstimmung mit örtlichen, bundesstaatlichen und/oder bundesweiten regulatorischen oder Zulassungsanforderungen und den Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors zu erfüllen.
- R. Die Assay-Kassette nicht verwenden, wenn der Aufbewahrungsbeutel nicht mehr verschlossen oder die Folie der Assay-Kassette beschädigt ist. Verständigen Sie den technischen Kundendienst von Hologic, wenn einer dieser Fälle eintritt.
- S. Flüssigkeitsverpackungen nicht mehr verwenden, wenn die Folienversiegelung nicht intakt ist. In diesem Fall den technischen Kundendienst von Hologic kontaktieren.
- T. Die Assay-Kassetten vorsichtig behandeln. Die Assay-Kassetten nicht fallen lassen oder umdrehen. Vermeiden Sie eine längere Einstrahlung von Umgebungslicht.
- U. Einige Reagenzien in diesem Kit sind mit Gefahrenhinweisen versehen.

Hinweis: Die Gefahrenkommunikation spiegelt die Einstufung der EU-Sicherheitsdatenblätter (SDS) wider. Spezifische Informationen zur Vermittlung von Gefahren für Ihre Region finden Sie in dem regionalspezifischen SDS in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung (Safety Data Sheet Library) unter www.hologicsds.com. Weitere Informationen zu anderen Symbolen finden Sie in der Symbollegende auf www.hologic.com/package-inserts.

Gefahrenhinweise für die EU	
Panther Fusion BKV Quant Assay-Kassette ALPHA-CYCLODEXTRIN 20-25 %	
–	H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.
Panther Fusion Capture-Reagenz-B (FCR-B) HEPES 15 - 20 % LITHIUMDODECYLSULFIT 10-15 % BERNSTEINSÄURE 1-5 % LITHIUMHYDROXID, MONOHYDRAT 1-5%	
–	H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.

**Panther Fusion Enhancer-Reagenz-B (FER-B)****LITHIUMHYDROXID, MONOHYDRAT 5 – 10 %****GEFAHR**

H302 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.

H314 - Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

P264 - Nach Gebrauch Gesicht, Hände und exponierte Haut gründlich waschen.

P270 - Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.

P330 - Mund ausspülen.

P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.

P260 - Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.

P280 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P301 + P330 + P331 - BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen.

P303 + P361 + P353 - BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen [oder duschen].

P304 + P340 - BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.

P305 + P351 + P338 - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

P310 - Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.

P321 - Besondere Behandlung (siehe ergänzende Anweisungen zur Ersten Hilfe auf diesem Kennzeichnungsetikett).

P363 - Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.

P405 - Unter Verschluss aufbewahren.

Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

A. Die folgende Tabelle enthält die Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für diesen Assay.

Reagenz	Lagerung im ungeöffneten Zustand	Haltbarkeit im Gerät/ außerhalb des Systems ¹	Offene Lagerung
Panther Fusion BKV Quant Assay-Kassette	2 °C bis 8 °C	60 Tage	2 °C bis 8 °C ²
Panther Fusion Capture-Reagenz-B (FCR-B)	15 °C bis 30 °C	30 Tage	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Enhancer-Reagenz-B (FER-B)	15 °C bis 30 °C	30 Tage	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion interne Kontrolle-B (IC-B)	2 °C bis 8 °C	(In wFCR-B)	Nicht zutreffend
Panther Fusion Elutionspuffer	15 °C bis 30 °C	60 Tage	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Öl	15 °C bis 30 °C	60 Tage	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Rekonstitutionspuffer I	15 °C bis 30 °C	60 Tage	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion BKV-Kalibratoren (1-5)	-15 °C bis -35 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch	Nicht zutreffend - Einmalgebrauch
Panther Fusion EBV-BKV Quant hohe Positivkontrolle	-15 °C bis -35 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch	Nicht zutreffend - Einmalgebrauch
Panther Fusion EBV-BKV Quant niedrige Positivkontrolle	-15 °C bis -35 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch	Nicht zutreffend - Einmalgebrauch
Panther Fusion Transplantat-Negativkontrolle (III)	-15 °C bis -35 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch	Nicht zutreffend - Einmalgebrauch

Wenn Reagenzien aus dem Panther Fusion System herausgenommen werden, sind sie sofort wieder unter ihren jeweils angegebenen Lagerungstemperaturen zu lagern.

¹ Die Haltbarkeit im System beginnt für die Panther Fusion BKV Quant Assay-Kassette, FCR-B, FER-B und IC-B ab dem Zeitpunkt, an dem das Reagenz im System platziert wird. Die Haltbarkeit im System beginnt für den Panther Fusion Rekonstitutionspuffer I, Panther Fusion Elutionspuffer und das Panther Fusion Ölreagenz ab dem Zeitpunkt, an dem die Reagenzpackung zum ersten Mal verwendet wird.

² Wenn die Assay-Kassette aus dem Panther Fusion System entnommen wird, sollte sie in einem luftdichten Behälter mit Trockenmittel bei der empfohlenen Lagerungstemperatur aufbewahrt werden.

- B. Das Panther Fusion Capture-Arbeitsreagenz-B (wFCR-B) und das Panther Fusion Verstärkungsreagenz-B (FER-B) sind 60 Tage lang stabil, wenn sie verschlossen und bei 15 °C bis 30 °C aufbewahrt werden. Nicht gekühlt lagern.
- C. Entsorgen Sie alle nicht verwendeten Reagenzien, die ihre Haltbarkeit überschritten haben.
- D. Bei Handhabung und Lagerung der Reagenzien Kreuzkontamination vermeiden.
- E. **Reagenzien nicht einfrieren.**
- F. **Kontrollen oder Kalibratoren nicht einfrieren.**

Entnahme, Bearbeitung und Lagerung von Patientenproben

Proben – Von Patienten entnommenes klinisches Material, das in ein passendes Transportsystem gefüllt wird. Für den Panther Fusion BKV Quant Assay umfasst dies Urinproben, die in einem Primärbehälter gesammelt wurden, sowie Plasmaproben in Röhrchen mit EDTA-Antikoagulanzen oder Plasmapräparationsröhrchen (PPTs).

Proben – Ein allgemeiner Begriff zur Beschreibung von Material zur Testung auf dem Panther Fusion System, einschließlich Patientenproben, in ein Aptima Urinprobentransportröhrchen umgefüllte, vorbereitete Patientenproben, Kalibratoren und Kontrollen.

Hinweis: *Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös zu handhaben. Es sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen zu treffen.*

Hinweis: *Achten Sie bei den Schritten, die eine Handhabung von Proben erfordern, darauf, eine Kreuzkontamination zu vermeiden. Benutztes Material ist beispielsweise so zu entsorgen, dass es nicht über geöffnete Röhrchen geführt wird.*

Hinweis: *Nur sekundäre Röhrchen aus Plastik werden für die Probenlagerung empfohlen.*

A. Probenentnahme

1. Für die Plasmavorbereitung können in die folgenden Glas- oder Kunststoffröhrchen entnommene Vollblutproben verwendet werden:
 - Röhrchen mit EDTA-Antikoagulanzen
 - Plasmapräparationsröhrchen (PPTs)
2. Urinproben sollten in einem Becher gesammelt werden.
 - Nach der Entnahme müssen die Urinproben aus dem primären Sammelbehälter bei 30 °C innerhalb einer Stunde oder bei Aufbewahrung zwischen 2 °C und 8 °C innerhalb von 6 Stunden in das Aptima Urinprobentransportröhrchen überführt werden.
 - Bevor die Urinproben getestet werden können, sollte der Urin im Primärbecher durch Umdrehen gründlich gemischt werden, bevor er in das Aptima Urinprobentransportröhrchen mit Urintransportmedium überführt wird.

B. Probenbearbeitung

1. Plasmaprobenbearbeitung:
 - Vollblut kann bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden und ist innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme zu zentrifugieren.
 - Plasma kann aus primären EDTA- oder PPT-Röhrchen vorbereitet werden.

- Plasma unter Einhaltung der Herstelleranweisungen für das jeweils verwendete Röhrchen vom Erythrozytenpellet trennen.
- Plasma kann in einem primären Röhrchen auf dem Panther Fusion System getestet oder zuvor in ein sekundäres Röhrchen wie ein Aptima® Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tube, SAT) überführt werden. Zur Gewährleistung eines ausreichenden Probenvolumens ist die folgende Tabelle zu berücksichtigen:

Tabelle 1: Minimales Probenvolumen

Röhrchen (Größe und Typ)	Minimales Volumen für 1 Replik
Aptima Probenaliquotröhrchen (Sample Aliquot Tube; SAT)	0,6 mL
12 x 75 mm	0,9 mL
13 x 100 mm	0,9 mL
13 x 100 mm mit Gel	0,7 mL
16 x 100 mm mit Gel	1,1 mL

- Wird der Test nicht sofort durchgeführt, kann das Plasma nach den nachstehenden *Bedingungen für die Lagerung von Patientenproben* gelagert werden.
- In ein sekundäres Röhrchen überführtes Plasma kann bei -20 °C eingefroren werden.
- Plasmaproben dürfen nicht in primären EDTA-Entnahmeröhrchen eingefroren werden.

2. Bearbeitung von Urinproben:

- Transferieren Sie 2000 µL Urin bei 30°C innerhalb von einer Stunde oder bei Aufbewahrung zwischen 2 °C und 8 °C innerhalb von 6 Stunden in ein Aptima Urinprobenentransportröhrchen (siehe *Handhabung von Urinproben* für Probenhandhabung).
- Setzen Sie die Kappe wieder auf und mischen Sie die Probe mindestens 5 Sekunden lang vorsichtig.

C. Bedingungen für die Lagerung von Patientenproben

Patientenproben können unter einer der folgenden Bedingungen aufbewahrt werden:

1. Plasmastabilität

- Nicht bearbeitete Patientenproben sind nach der Zentrifugierung bei 2 °C bis 30 °C für 24 Stunden stabil.
- Nicht bearbeitete Patientenproben sind nach der Zentrifugierung bei 2 °C bis 8 °C für 5 Tage stabil.
- Nicht bearbeitete und bearbeitete Patientenproben sind nach der Zentrifugierung bei -20 °C für 60 Tage stabil.
- Eingefrorene Proben sind auch bei bis zu drei Gefrier-Auftau-Zyklen stabil.

2. Stabilität der Urinproben

- Nicht bearbeitete Patientenprobe sind bei 2 °C bis 8 °C für 6 Stunden oder bei 30 °C für 1 Stunde stabil.
- Vorbereitete Patientenproben sind bei 2 °C bis 30 °C für 24 Stunden stabil.
- Vorbereitete Patientenproben sind bei 2 °C bis 8 °C für 5 Tage stabil.
- Vorbereitete Patientenproben sind bei -20 °C für 60 Tage stabil.

- Eingefrorene Proben sind auch bei bis zu drei Gefrier-Auftau-Zyklen stabil.

Auf dem Panther Fusion System gelagerte Proben

Plasma und vorbereitete Urinproben können bis zu 8 Stunden lang unverschlossen auf dem Panther Fusion System stehen gelassen werden. Solange die Gesamtverweildauer auf dem Panther Fusion System vor dem Pipettieren der Probe durch das Panther Fusion System 8 Stunden nicht übersteigt, können die Proben aus dem Panther Fusion System genommen und später getestet werden.

Transport von Patientenproben

Halten Sie während des Transports die in *Entnahme, Bearbeitung und Lagerung von Patientenproben* beschriebenen Lagerungsbedingungen aufrecht.

Hinweis: Ein Versand der Patientenproben muss in Übereinstimmung mit geltenden nationalen, internationalen und regionalen Frachtbestimmungen erfolgen.

Panther Fusion System

Das Panther Fusion System ist ein integriertes Nukleinsäure-Testsystem, in dem alle zur Durchführung der verschiedenen Panther Fusion-Assays erforderlichen Schritte, von der Probenbearbeitung über die Amplifikation und Detektion bis zur Datenreduktion, vollständig automatisch ausgeführt werden.

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien für Panther Fusion BKV Quant Assay

Assay-Verpackung

Komponenten	Art. Nr.	Lagerung
Panther Fusion BKV Quant Assay-Kalibratoren PCAL 1 qBKV, 3 pro Box PCAL 2 qBKV, 3 pro Box PCAL 3 qBKV, 3 pro Box PCAL 4 qBKV, 3 pro Box PCAL 5 qBKV, 3 pro Box	PRD-07234	-15 °C bis -35 °C
Panther Fusion EBV-BKV Quant Assaykontrollen Röhrchen mit HPC hohe Positivkontrolle, 5 pro Box Röhrchen mit LPC niedrige Positivkontrolle, 5 pro Box Röhrchen mit III Transplantat-Negativkontrolle, 5 pro Box	PRD-07158	-15 °C bis -35 °C
Panther Fusion BKV Quant Assay-Kassette, 96 Tests Panther Fusion qBKV Assay-Kassette, 12 Tests, 8 pro Box	PRD-07232	2 °C bis 8 °C
Panther Fusion interne Kontrolle-B, 960 Tests Panther Fusion interne Kontrolle-B, Röhrchen, 4 pro Box	PRD-06234	2 °C bis 8 °C
Panther Fusion Extraktionsreagenz-B, 960 Tests Panther Fusion Capture-Reagenz-B, Flasche, 240 Tests, 4 pro Box Panther Fusion Enhancer-Reagenz-B, Flasche, 240 Tests, 4 pro Box	PRD-06232	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Elutionspuffer, 2400 Tests Panther Fusion Elutionspuffer-Packung, 1200 Tests, 2 pro Box	PRD-04334	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Rekonstitutionspuffer I, 1920 Tests Panther Fusion Rekonstitutionspuffer I, 960 Tests, 2 pro Box	PRD-04333	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Ölreagenz, 1920 Tests Panther Fusion Ölreagenz, 960 Tests, 2 pro Box	PRD-04335	15 °C bis 30 °C

Erforderliche und nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: Die von Hologic erhältlichen Materialien sind mit der Katalognummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.

Material	Kat.- Nr.
Panther® System	303095
Panther Fusion® Module	PRD-04173
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther System, Continuous Fluid und Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® Assayflüssigkeitskit (Aptima Waschlösung, Aptima Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima Ölreagenz)	303014 (1000 Tests)
Multi-Röhrchen-Einheiten (MTU)	104772-02
Panther Entsorgungsbeutel-Kit	902731
Panther Abfallabdeckung	504405
oder Panther System-Durchlaufkit enthält MTUs, Entsorgungsbeutel, Abdeckungen für Abfallbehälter, Assayflüssigkeiten und Auto Detects*	303096 (5000 Tests)
Spitzen, 1000 µL, gefiltert, zur Flüssigkeitsstandmessung, leitfähig und Einwegmaterial: Nicht alle Produkte sind in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an Ihren Vertreter, um regionsspezifische Informationen zu erhalten.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Panther Fusion Röhrchentabletts, 1.008 Tests, 18 Tabletts pro Box	PRD-04000
Aptima Urinprobentransportröhrchen nur zum Testen von Urinproben	105575 (100 vorgefüllte Röhrchen pro Beutel)
Hologic undurchlässige Ersatzkappen (Einweg-Röhrchenkappe)	PRD-06720 (100 Kappen pro Beutel)
Chlorbleiche, 5 % bis 8,25 % (0,7 M bis 1,16 M) Natriumhypochloritlösung	
Hinweis: Siehe die <i>Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System</i> für Anweisungen zur Zubereitung der verdünnten Natriumhypochlorit-Lösung.	—
Ungepuderte Einweghandschuhe	—
Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite	—
Fusselneutrale Tücher	—
Pipette	—
Spitzen	—
Primäre Entnahmeröhrchen (EDTA und PPT) Optionen: 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
Zentrifuge	—
Vortex-Mischer	—

*Nur für Panther Aptima TMA Assays erforderlich.

Optionale Materialien

Material	Kat.- Nr.
Optionen für sekundäre Röhrchen:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tubes, SAT) (100 St.)	FAB-18184
Kappe für Transportröhrchen (100 St.) <i>Kappe für SAT</i>	504415
Aptima Probenverdünner	PRD-03003
Aptima Probenverdünner-Kit <i>enthält Aptima Probenverdünner, 100 SATs und 100 Kappen</i>	PRD-03478
Transferpipetten	—
Wippschüttler für Röhrchen	—

Testverfahren mit dem Panther Fusion System

Hinweis: Nähere Verfahrensinformationen finden Sie in der Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System.

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

1. Die Arbeitsflächen mit einer 2,5 %igen bis 3,5 %igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung abwischen. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken. Spülen Sie diese anschließend mit entionisiertem Wasser ab. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen. Die Labortischoberflächen mit sauberen, saugfähigen Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite abdecken.
2. Eine separate Arbeitsfläche, auf der die Proben vorbereitet werden, reinigen. Gehen Sie dabei vor, wie vorstehend beschrieben (Schritt A.1).
3. Alle Pipetten reinigen. Gehen Sie bei der Reinigung vor, wie vorstehend beschrieben (Schritt A.1).

B. Vorbereitung von Kalibratoren und Kontrollen

Lassen Sie die Kalibratoren und die Kontrollen vor der Verarbeitung eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C annehmen, indem Sie folgenderweise vorgehen:

1. Die Kalibratoren und die Kontrollen aus der Lagerung (-15 °C bis -35 °C) entnehmen und bei 15 °C bis 30 °C platzieren. Jedes Röhrchen während des Auftauens zum gründlichen Mischen vorsichtig umdrehen. Darauf achten, dass der Röhrcheninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

Option. Die Röhrchen mit dem Kalibrator und den Kontrollen können auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung platziert werden, um ihren Inhalt gründlich zu mischen. Darauf achten, dass der Röhrcheninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

Hinweis: Beim Umdrehen der Kalibratoren und Kontrollen übermäßige Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung auf dem Panther Fusion System.

2. Wenn der Röhrcheninhalt aufgetaut ist, trocknen Sie das Röhrchen außen mit einem sauberen, trockenen Einwegtuch ab.
3. Zur Verhinderung einer Kontamination sollten Sie die Röhrchen zu diesem Zeitpunkt nicht öffnen.

C. Reagenzvorbereitung

1. Die gelagerten Flaschen mit IC-B, FCR-B und FER-B entfernen.
2. FCR-B mischen, bis die Beads vollständig suspendiert sind. Vermeiden Sie während dieses Schritts Schaumbildung.
3. Die Flaschen mit IC-B, FCR-B und FER-B öffnen und die Deckel entsorgen. Die TCR-Tür am oberen Fach des Panther Fusion Systems öffnen.
4. Die Flaschen mit IC-B, FCR-B und FER-B in die entsprechenden Positionen des TCR-Karussells stellen.
5. Die TCR-Tür schließen.

Hinweis: Das Panther Fusion System fügt IC-B zu FCR-B hinzu. Nachdem das IC-B dem FCR-B hinzugefügt wurde, wird es als wFCR-B (Arbeits-FCR-B) bezeichnet. Wenn das wFCR-B und das FER-B aus dem System genommen werden, müssen neue Deckel verwendet und die Flaschen sofort unter den richtigen Lagerungsbedingungen gelagert werden.

D. Probenhandhabung

Hinweis: Bevor Sie die Patientenproben auf das Panther Fusion System laden, bereiten Sie die Patientenproben entsprechend den Anweisungen im Abschnitt *Entnahme, Bearbeitung und Lagerung von Patientenproben* vor.

Prüfen Sie die Probenröhrchen vor dem Laden in den Ständer. Wenn ein Probenröhrchen Luftblasen enthält oder ein geringeres Volumen als üblicherweise besitzt, klopfen Sie leicht auf den Boden des Röhrchens, damit der Inhalt auf den Boden sinkt.

E. Handhabung von Plasmaproben

1. Stellen Sie sicher, dass vorbereitete Proben in primären Röhrchen oder unverdünnte Proben in sekundären Röhrchen ordnungsgemäß entsprechend *Entnahme, Bearbeitung und Lagerung von Patientenproben* gelagert wurden.
2. Vergewissern Sie sich, dass gefrorene Patientenproben ganz aufgetaut sind. Mischen Sie die aufgetauten Patientenproben gründlich 3 bis 5 Sekunden auf dem Vortexer.
3. Bringen Sie die Patientenproben vor der Verarbeitung auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C. Siehe *Auf dem Panther Fusion System gelagerte Proben* für zusätzliche Informationen zu im System gelagerten Proben.
4. Vergewissern Sie sich, dass jedes primäre oder sekundäre Röhrchen Patientenprobe in ausreichender Menge enthält. Informationen zum minimalen Probenvolumen für 1 Replikat sind Tabelle 1 zu entnehmen.
5. Zentrifugieren Sie jede Patientenprobe unmittelbar vor dem Laden in einen Probenständer 10 Minuten bei 1000 bis 3000g. Bei diesem Schritt nicht die Kappen entfernen.

Für Informationen zum Laden des Ständers und zum Abnehmen der Deckel siehe Schritt G.2 unten.

F. Handhabung von Urinproben

1. Stellen Sie sicher, dass Proben in Primärröhrchen oder verarbeitete Proben in Aptima Urinprobentransportröhrchen ordnungsgemäß gemäß *Entnahme, Bearbeitung und Lagerung von Patientenproben* gelagert werden.

2. Vergewissern Sie sich, dass gefrorene Patientenproben in Aptima Urinprobentransportröhrchen ganz aufgetaut sind.
3. Bringen Sie die Patientenproben vor dem Testen auf dem Panther Fusion System auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C. Siehe *Auf dem Panther Fusion System gelagerte Proben* für zusätzliche Informationen zu im System gelagerten Proben.

Hinweis: Vermeiden Sie es, Proben in das Panther/Panther Fusion System zu laden, die Präzipitate enthalten.

4. Drehen Sie die Aptima Urinprobentransportröhrchen mindestens 3 Mal vorsichtig um oder mischen Sie sie vorsichtig auf einer Schwenkvorrichtung, bis der Urin homogen ist.

Hinweis: Beim Umdrehen oder Mischen der Röhrchen übermäßige Schaumbildung vermeiden. Schaum kann die Füllstandsmessung auf dem Panther Fusion System beeinträchtigen.

Für Informationen zum Laden des Ständers und zum Abnehmen der Deckel siehe Schritt G.2 unten.

G. Vorbereitung des Systems

1. Informationen über die Einrichtung des Panther Fusion Systems einschließlich Laden der Proben, Reagenzien, Assay-Kassetten und Universalflüssigkeiten finden Sie in der *Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System* und unter *Verfahrenshinweise*.
2. Die Proben in den Probenständer laden. Führen Sie für jedes Probenröhrchen (Patientenproben und ggf. Kalibratoren und Kontrollen) die folgenden Schritte durch:
 - a. Die Kappe eines Probenröhrchens lösen, aber noch nicht abnehmen.

Hinweis: Besonders darauf achten, eine Kontamination durch Aerosolausbreitung zu vermeiden. Die Kappen der Proben vorsichtig lösen.

- b. Das Probenröhrchen in den Probenständer laden.
 - c. Wiederholen Sie die Schritte 2.a und 2.b für jede verbleibende Probe.
 - d. Wenn die Proben in den Probenständer geladen sind, nehmen Sie die Kappe von jedem Probenröhrchen ab und entsorgen Sie sie in einen Probenständer. Zur Vermeidung von Kontamination die Kappen nicht über einen Probenständer oder ein Probenröhrchen führen.
 - e. Ggf. eine neue Einweg-Transferpipette verwenden, um etwaige Luftblasen oder Schaum zu entfernen. Luftbläschen im Röhrchen stören die Füllstandsmessung des Panther Fusion Systems.
 - f. Wenn die letzte Kappe entfernt wurde, laden Sie den Probenständer in ein Probenfach.

Hinweis: Sichern Sie bei gleichzeitiger Analyse anderer Assays und Probentypen den Probenhalter, bevor Sie den Probenständer in ein Probenfach laden.

- g. Wiederholen Sie die Schritte 2.a bis 2.f für den nächsten Probenständer.

H. Vorbereitung des Systems: Anwenden des Umrechnungsfaktors für Urinproben

1. Das System entsprechend den Anweisungen im *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System) einrichten.
2. Probenständer laden.
3. Den Urin-Umrechnungsfaktor auf Assay-Testanforderungen für Urinproben anwenden.

Hinweis: Der Urin-Umrechnungsfaktor kann auf einen ganzen Ständer oder eine einzelne Testanforderung angewendet werden.

Anwenden des Urin-Umrechnungsfaktors auf einen ganzen Ständer mit Urinproben:

- Auf dem Bildschirm *Sample Rack Bay* (Probenständerfach) auf den auszuwählenden Ständer doppelklicken. Für den ausgewählten Ständer wird der Bildschirm *Sample Rack Loading* (Laden von Probenständern) angezeigt.
- Dilute All (Alle verdünnen)** auswählen.

Das Fenster *Dilution Factor* (Verdünnungsfaktor) (Abbildung 1) erscheint.

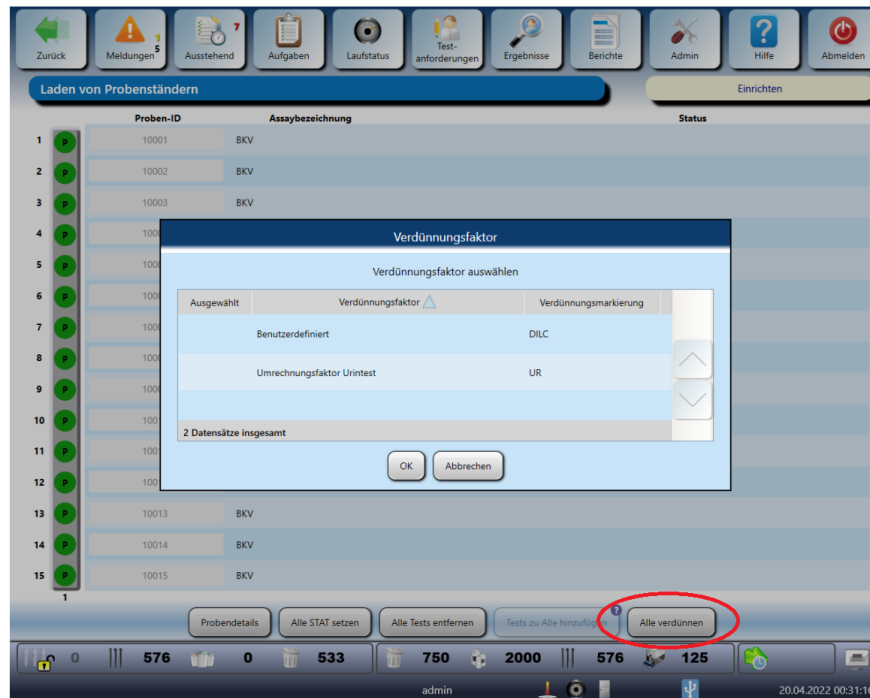


Abbildung 1. Das Fenster „Dilution Factor“ (Verdünnungsfaktor) auf dem Bildschirm „Sample Rack Loading“ (Probenständer laden) (Beispiel)

- Urin-Umrechnungsfaktor** auswählen.
- OK** wählen.

Das Fenster *Set Dilution Factor for Rack* (Verdünnungsfaktor für Probenständer einrichten) wird angezeigt.

- Yes (Ja)** auswählen, um die Urin-Umrechnungsfaktormarkierung auf den ganzen Ständer mit Urinproben anzuwenden.

Anwenden des Urin-Umrechnungsfaktors auf eine einzelne Testanforderung (Abbildung 2):

- Auf dem Bildschirm *Sample Rack Bay* (Probenständerfach) auf den geladenen Ständer doppelklicken, der die Zielprobe(n) enthält.

Für den ausgewählten Probenständer wird der Bildschirm *Sample Rack Loading* (Laden von Probenständern) angezeigt.

- Auf dem Bildschirm *Sample Rack Loading* (Laden von Probenständern) auf die Patientenprobe(n) von Interesse doppelklicken.

Der Bildschirm *Sample Details* (Probendetails) öffnet sich mit den aktuellen Testanforderungen für die ausgewählte Probe.

- c. Im Bereich *Test Orders* (Testanforderungen) die interessierende Testanforderung wählen.
- d. **Apply Dilution (Verdünnung anwenden)** auswählen.

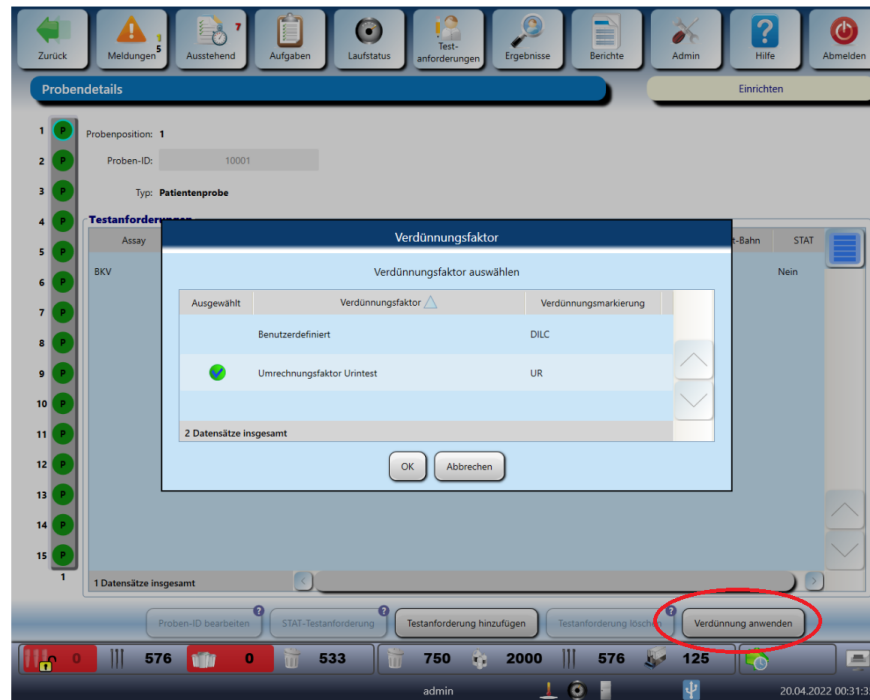


Abbildung 2. Das Fenster „Dilution Factor“ (Verdünnungsfaktor) auf dem Bildschirm „Sample Details“ (Probendetails) (Beispiel)

- e. **Urin-Umrechnungsfaktor** auswählen.
 - f. **OK** wählen, um den Urin-Umrechnungsfaktor bei allen ausgewählten Testanforderungen anzuwenden.
4. Bei Bedarf kann der Urin-Umrechnungsfaktor vor Beginn der Verarbeitung aus Testanforderungen entfernt werden.

So kann der Urin-Umrechnungsfaktor aus einem gesamten Probenständer entfernt werden:

- a. Auf dem Bildschirm *Sample Rack Bay* (Probenständerfach) auf den auszuwählenden Ständer doppelklicken.

Für den ausgewählten Ständer wird der Bildschirm *Sample Rack Loading* (Laden von Probenständern) angezeigt.

- b. **Dilute All (Alle verdünnen)** auswählen.
- c. Im Fenster *Dilution Factor* (Verdünnungsfaktor) die Auswahl für **Urine Conversion Factor (Urin-Umrechnungsfaktor)** aufheben.
- d. **OK** wählen.

Das Fenster *Set Dilution Factor for Rack* (Verdünnungsfaktor für Probenständer einrichten) wird angezeigt.

- e. **Yes (Ja)** auswählen, um den Urin-Umrechnungsfaktor aus einem gesamten Probenständer zu löschen.

So kann der Urin-Umrechnungsfaktor aus Assay-Testanforderungen entfernt werden:

- a. Auf dem Bildschirm *Sample Rack Bay* (Probenständerfach) auf den geladenen Ständer doppelklicken, der die Zielprobe(n) enthält.
Für den ausgewählten Probenständer wird der Bildschirm *Sample Rack Loading* (Laden von Probenständern) angezeigt.
- b. Auf dem Bildschirm *Sample Rack Loading* (Laden von Probenständern) auf die Patientenprobe(n) von Interesse doppelklicken.
Der Bildschirm *Sample Details (Probendetails)* öffnet sich mit den aktuellen Testanforderungen für die ausgewählte Probe.
- c. Im Bereich *Test Orders* (Testanforderungen) die interessierende Testanforderung wählen.
- d. **Apply Dilution (Verdünnung anwenden)** auswählen.
- e. Im Fenster *Dilution Factor* (Verdünnungsfaktor) die Auswahl für **Urine Conversion Factor (Urin-Umrechnungsfaktor)** aufheben.
- f. **OK** auswählen, um den Urin-Umrechnungsfaktor aus der Testanforderung zu löschen.

Verfahrenshinweise

A. Kalibratoren und Kontrollen

1. Die Röhrchen mit qBKV-Kalibratoren (5 Röhrchen), die EBV-BKV niedrige Positivkontrolle (LPC), die EBV-BKV hohe Positivkontrolle (HPC) und die Transplantat-Negativkontrolle (NC III) können auf jede beliebige Position im Probenständer und in jede beliebige Bahn im Probenfach des Panther Fusion Systems geladen werden. Die Pipettierung von Kalibrator und Kontrolle beginnt, nachdem die BKV-Patientenproben auf das System geladen wurden. Die Pipettierung der Proben beginnt, wenn eine der folgenden beiden Bedingungen erfüllt ist:
 - a. Die Kalibratoren und die Kontrollen werden derzeit vom System vorbereitet.
 - b. Gültige Ergebnisse für die Kalibratoren und Kontrollen werden auf dem System registriert.
2. Nachdem die Röhrchen mit Kalibratoren und Kontrollen pipettiert und für den Panther Fusion BKV Quant Assay vorbereitet wurden, können die Patientenproben getestet werden. Die Ergebnisse der Kalibrierung sind 60 Tage lang gültig und die Kontrollergebnisse sind bis zu 30 Tage gültig (die Frequenz wird von einem Administrator konfiguriert), **es sei denn**:
 - a. Die Kalibratorergebnisse sind ungültig.
 - b. Die Kontrollergebnisse sind ungültig.
 - c. Der Anwender fordert in der Panther Fusion System Software die Durchführung neuer Kontrollen/Kalibratoren an.
3. Eine Kalibrierung ist für jede neue Assay-Kassettencharge erforderlich, die auf das Panther Fusion System geladen wird, bevor sie für die Probenbearbeitung verwendet werden kann.
4. Jedes Kalibrator- und Kontrollenröhrchen kann einmal verwendet werden.

Qualitätskontrolle

Assay-Kalibrierung

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss eine Assay-Kalibrierung durchgeführt werden. Die fünf positiven Kalibratoren werden jedes Mal, wenn eine neue Assay-Kassettencharge auf das Panther Fusion System geladen wird, dreifach durchgeführt. Sobald festgelegt ist, ist die Assay-Kalibrierung bis zu 60 Tage gültig. Der Anwender wird von der Software auf dem Panther Fusion System darauf aufmerksam gemacht, wenn eine Kalibrierung erforderlich ist.

Während der Bearbeitung verifiziert die Panther Fusion Software automatisch die Gültigkeit der Kalibrationskurve. Wenn die Kalibrierung die Gültigkeitsprüfungen nicht besteht, annulliert das Panther Fusion System automatisch alle betroffenen Proben und fordert die Testung eines neuen Assay-Kalibratorsets an, bevor zusätzliche Proben pipettiert werden.

Der Assay bearbeitet Proben standardmäßig als unverdünntes Plasma. Zur Bearbeitung der Urinproben muss die Verdünnung mit dem Urin-Umrechnungsfaktor über die Anwenderschnittstelle des Geräts ausgewählt werden.

Negativ- und Positivkontrollen

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss ein Satz von Assaykontrollen getestet werden. Ein Replikat der NC III (Transplantat-Negativkontrolle), der LPC (niedrigen Positivkontrolle) und der HPC (hohen Positivkontrolle) müssen jedes Mal getestet werden, wenn eine neue Assay-Kassettencharge auf das Panther Fusion System geladen wird oder wenn das aktuelle Set gültiger Kontrollen für eine aktive Kassettencharge das Verfallsdatum überschritten hat.

Das Panther Fusion System ist so konfiguriert, dass Assaykontrollen in einem vom Administrator festgelegten Intervall von bis zu 30 Tagen durchgeführt werden. Die Software des Panther Fusion Systems warnt den Anwender, wenn die Assaykontrollen notwendig sind und beginnt neue Tests erst, wenn die Assaykontrollen geladen wurden und die Verarbeitung begonnen hat.

Während der Verarbeitung werden die Annahmekriterien für die Assaykontrollen vom Panther Fusion System automatisch verifiziert. Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse müssen die Assaykontrollen eine Reihe von Gültigkeitsprüfungen bestehen, die vom Panther Fusion System durchgeführt werden.

Wenn die Assaykontrollen alle Gültigkeitsprüfungen bestanden haben, werden sie für das vom Administrator festgelegte Zeitintervall als gültig erachtet. Nach Ablauf dieses Zeitintervalls verfallen die Assaykontrollen für das Panther Fusion System und es wird ein neues Assaykontrollset benötigt, bevor weitere Proben pipettiert werden können.

Wenn eine der Assaykontrollen die Gültigkeitsprüfungen nicht besteht, annulliert das Panther Fusion System automatisch die betroffenen Proben und es ist ein neues Assaykontrollset erforderlich, bevor zusätzliche Proben pipettiert werden können.

Interne Kontrolle

Während des Extraktionsprozesses wird jeder Probe eine interne Kontrolle hinzugefügt. Während der Verarbeitung werden die Annahmekriterien für interne Kontrollen von der Software auf dem Panther Fusion System automatisch verifiziert. Für BKV-positive Proben wird kein Nachweis der internen Kontrolle benötigt. Die interne Kontrolle muss in allen Proben nachgewiesen werden, die negativ für BKV sind; Proben, die dieses Kriterium nicht erfüllen, werden als ungültig berichtet. Jede Probe mit einem ungültigen Ergebnis muss erneut getestet werden.

Die Panther Fusion System Software verifiziert alle Prozesse genau, wenn gemäß den Anweisungen in der Packungsbeilage und in der *Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System* verfahren wird.

Interpretation der Ergebnisse

Das Panther Fusion System bestimmt die Konzentration der BKV-DNA in Patientenproben und Kontrollen automatisch, indem es die Ergebnisse mit einer Kalibrationskurve vergleicht. BKV-DNA-Konzentrationen werden in IE/mL und $\log_{10}$ IE/mL angegeben. In Tabelle 2 und Tabelle 3 ist die Ergebnisauswertung gezeigt.

Tabelle 2: Interpretation der Plasma-Ergebnisse

Gemeldete Ergebnisse für den BKV Quant Assay		
IE/mL	$\log_{10}$ -Wert	Auswertung
Nicht nachgewiesen	Nicht nachgewiesen	BKV-DNA nicht nachgewiesen
< 79 nachgewiesen	< 1,90	BKV-DNA ist nachgewiesen, jedoch unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantification, LLoQ).
79 bis 1,0E09	1,90 bis 9,00	Die BKV-DNA-Konzentration liegt im quantitativen Bereich von LLoQ bis ULoQ IE/mL.
> 1,0E09	> 9,00	Die BKV-DNA-Konzentration liegt über der oberen Quantifizierungsgrenze (Upper Limit of Quantification, ULoQ).
Ungültig ^a	Ungültig ^a	Bei der Bestimmung ist ein Fehler aufgetreten. Die Probe sollte noch einmal getestet werden.

^a Ungültige Ergebnisse sind in blauer Schrift angezeigt.

Tabelle 3: Interpretation der Urin-Ergebnisse

Gemeldete Ergebnisse für den BKV Quant Assay		
IE/mL	$\log_{10}$ -Wert	Auswertung
Nicht nachgewiesen	Nicht nachgewiesen	BKV-DNA nicht nachgewiesen
< 162 nachgewiesen	< 2,21	BKV-DNA ist nachgewiesen, jedoch unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantification, LLoQ).
162 bis 2,0E09	2,21 bis 9,30	Die BKV-DNA-Konzentration liegt im quantitativen Bereich von LLoQ bis ULoQ IE/mL.
> 2,0E09	> 9,30	Die BKV-DNA-Konzentration liegt über der oberen Quantifizierungsgrenze (Upper Limit of Quantification, ULoQ).
Ungültig ^a	Ungültig ^a	Bei der Bestimmung ist ein Fehler aufgetreten. Die Probe sollte noch einmal getestet werden.

^a Ungültige Ergebnisse sind in blauer Schrift angezeigt.

Einschränkungen

- A. Dieser Assay darf nur von Mitarbeitern durchgeführt werden, die in der Durchführung dieses Verfahrens unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung dieser Anweisungen kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.
- B. Zuverlässige Ergebnisse hängen von der korrekten Entnahme, dem Transport, der Lagerung und der Verarbeitung der Patientenproben ab.
- C. Eine Kontamination ist durch Einhaltung der guten Laborpraxis und der in der vorliegenden Packungsbeilage angegebenen Vorgehensweise zu vermeiden.
- D. Es besteht die seltene Möglichkeit, dass Mutationen in den hoch konservierten Regionen des Virusgenoms, in denen die Primer und/oder Sonden im Panther Fusion BKV Quant Assay binden, den Assay stören und so das Virus zu gering quantifiziert oder sogar überhaupt nicht nachgewiesen wird.
- E. Negative Ergebnisse schließen BKV-Infektionen nicht aus und dürfen nicht als alleinige Grundlage für eine Behandlung und andere Entscheidungen zur Patientenversorgung dienen.
- F. Ein positives Ergebnis zeigt den Nachweis von Nukleinsäure aus dem entsprechenden Virus an. Nukleinsäure kann weiter vorhanden sein, auch nachdem das Virus nicht mehr vermehrungsfähig ist.

Leistung

Nachweisgrenze mit dem 1. internationalen WHO-Standard

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des Assays ist definiert als die BKV-DNA-Konzentration, die gemäß CLSI EP17-A2 mit einer Wahrscheinlichkeit von mindestens 95 % festgestellt wird.⁷

Nachweisgrenze mit den WHO-Standards in Plasma

Die LoD wurde bestimmt durch Testung von Panels des 1. internationalen WHO-Standards (NIBSC-Code 14/212) für BKV, die in BKV-negativem Humanplasma verdünnt wurden. Zwanzig (20) Replikate jeder Verdünnung wurden mit je drei Reagenzchargen getestet, was je Verdünnung insgesamt 60 Replikate ergab. Zur Aufstellung der vorhergesagten Nachweisgrenzen wurde eine Probit-Analyse durchgeführt. Bei den in Tabelle 4 dargestellten LoD-Werten handelt es sich um die Ergebnisse der Reagenzienchargen mit der höchsten vorhergesagten Nachweisgrenze. Die LoD für den Panther Fusion BKV Quant Assay mit dem 1. internationalen WHO-Standard beträgt 43,1 IE/mL für Plasma.

Tabelle 4: Nachweisgrenze in Plasma mit dem 1. internationalen WHO-Standard für BKV

Vorhergesagte Nachweisgrenze	Konzentration (IE/mL)
10 %	1,6
20 %	2,1
30 %	2,7
40 %	3,5
50 %	4,5
60 %	6,1
70 %	8,6
80 %	13,3
90 %	25,3
95 %	43,1

Nachweisgrenze mit den WHO-Standards in Urin

Die LoD wurde bestimmt durch Testung von Panels des 1. internationalen WHO-Standards für BKV, die in BKV-negativem Humanurin verdünnt wurden. Zwanzig (20) Replikate jeder Verdünnung wurden mit je drei Reagenzchargen getestet, was je Verdünnung insgesamt 60 Replikate ergab. Zur Aufstellung der vorhergesagten Nachweisgrenzen wurde eine Probit-Analyse durchgeführt. Bei den in Tabelle 5 dargestellten LoD-Werten handelt es sich um die Ergebnisse der Reagenzienchargen mit der höchsten vorhergesagten Nachweisgrenze. Die LoD für den Panther Fusion BKV Quant Assay mit dem 1. internationalen WHO-Standard beträgt 143,6 IE/mL für Urin.

Tabelle 5: Nachweisgrenze in Urin mit dem 1. internationalen WHO-Standard für BKV

Vorhergesagte Nachweisgrenze	Konzentration (IE/mL)
10 %	3,7
20 %	6,0
30 %	9,1
40 %	13,0
50 %	18,5
60 %	26,2
70 %	38,1
80 %	58,1
90 %	99,5
95 %	143,6

Linearer Bereich

Linearer Bereich in Plasma

Der lineare Bereich wurde durch Testung von BKV-Panels etabliert, die gemäß CLSI EP06-A in BKV-negativem Humanplasma verdünnt wurden.⁸ Die Panels variierten zwischen Konzentrationen von 1,80 log IE/mL und 9,08 log IE/mL. Der Panther Fusion BKV Quant Assay zeigte über den gesamten Testbereich Linearität. Die obere Quantifizierungsgrenze (ULOQ) des Assays beträgt 9,00 log IE/mL, wie in Abbildung 3 dargestellt.

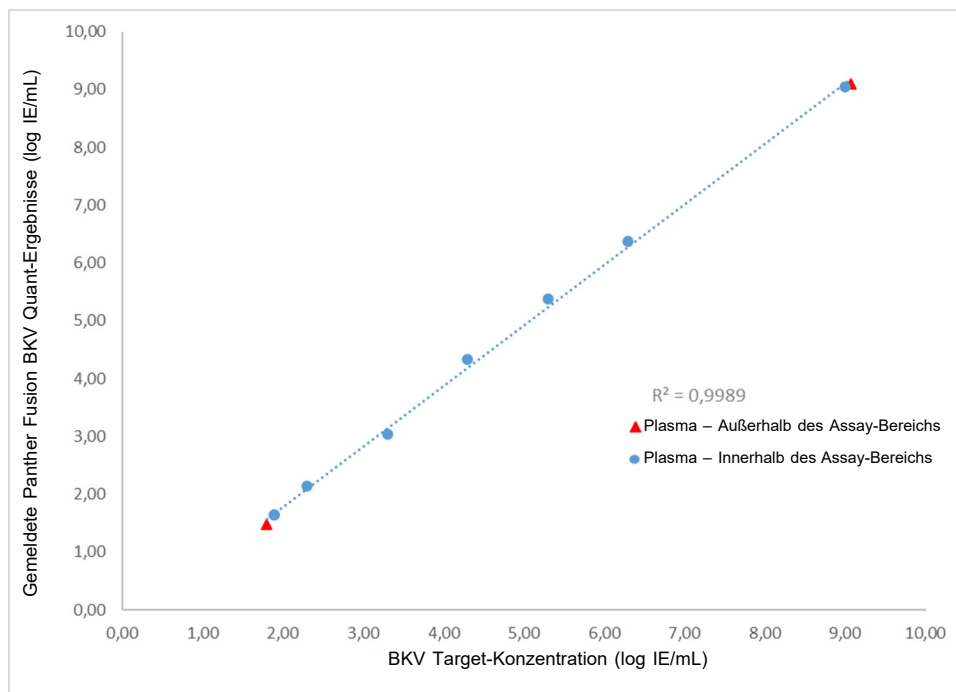


Abbildung 3. Linearität in Plasma

Linearer Bereich in Urin

Der lineare Bereich wurde durch Testung von BKV-Panels etabliert, die gemäß CLSI EP06-A in BKV-negativem Humanurin verdünnt wurden.⁸ Die Panels variierten zwischen Konzentrationen von 2,11 log IE/mL und 9,38 log IE/mL. Der Panther Fusion BKV Quant Assay zeigte über den gesamten Testbereich Linearität. Die obere Quantifizierungsgrenze (ULOQ) des Assays beträgt 9,30 log IE/mL, wie in Abbildung 4 dargestellt.

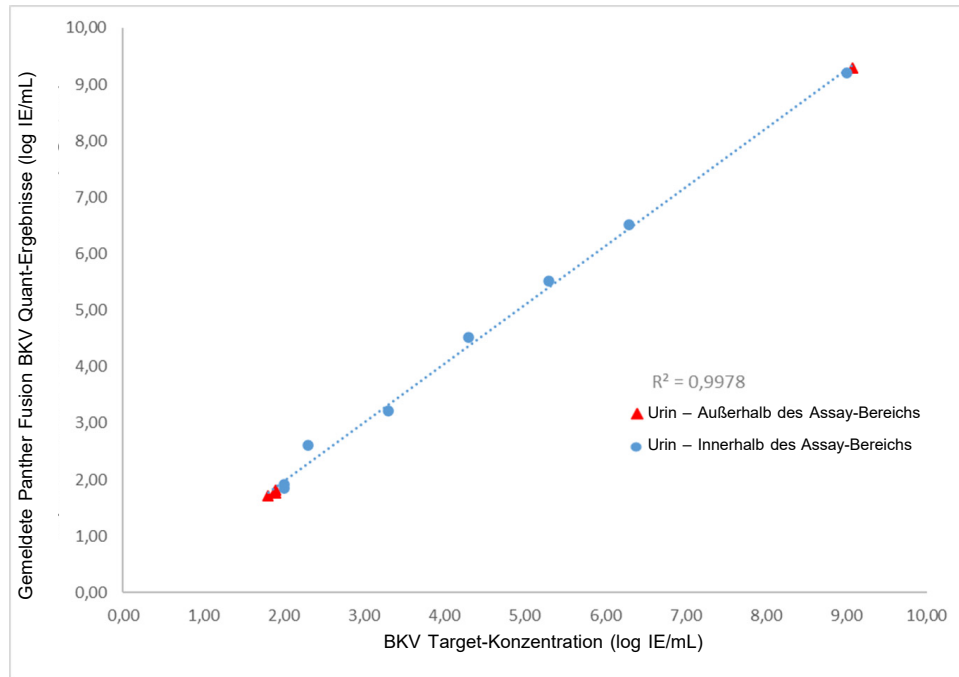


Abbildung 4. Linearität in Urin

Untere Quantifizierungsgrenze mit dem 1. Internationalen WHO-Standard

Die untere Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ist definiert als die niedrigste Konzentration, bei der BKV zuverlässig gemäß CLSI EP17-A2 quantifiziert werden kann.⁷ Der Gesamtfehler wurde unter Verwendung des Westgard-Modells geschätzt: Gesamtfehler (TE) = |Abweichung| + 2 Standardabweichung (SD). Zur Gewährleistung der Präzision und Genauigkeit der Messungen wurde der Gesamtfehler des Panther Fusion BKV Quant Assays auf 1,2 log IE/mL festgelegt, mit einer Abweichung von der Richtigkeit und einer Standardabweichung (SD), die jeweils $\leq 0,5$ log IE/mL und $\leq 0,35$ log IE/mL betragen muss.

Untere Quantifizierungsgrenze unter Verwendung des WHO-Standards in Plasma

Die LLoQ wurde bestimmt durch Testung von Panels des 1. internationalen WHO-Standards (NIBSC-Code 14/212) für BKV, die in BKV-negativem Humanplasma verdünnt wurden. Zwanzig (20) Replikate jeder Verdünnung wurden mit je drei Reagenzchargen getestet, was je Verdünnung insgesamt 60 Replikate ergab. Die LLoQ-Ergebnisse für die drei Reagenzchargen sind in Tabelle 6 dargestellt. Die mit dem 1. internationalen WHO-Standard generierte LLoQ für BKV in Plasma beträgt 79 IE/mL (1,90 log IE/mL).

Tabelle 6: Bestimmung der LLoQ unter Verwendung des 1. internationalen WHO-Standards für BKV in Plasmaverdünnung

Reagenzcharge	N	N nachgewiesen	Target- Konzentration (log IE/mL)	BKV Quant Assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	[Abweichung] (log IE/mL)	Berechneter TE (log IE/mL)
1	20	20	1,90	1,95	0,19	0,2	0,5
	20	20	2,06	2,09	0,14	0,1	0,4
	20	20	2,18	2,26	0,12	0,1	0,4
	20	20	2,26	2,35	0,15	0,2	0,5
2	20	20	1,90	1,96	0,14	0,1	0,4
	20	20	2,06	2,13	0,16	0,2	0,5
	20	20	2,18	2,24	0,16	0,1	0,4
	20	20	2,26	2,35	0,14	0,1	0,4
3	20	20	1,90	1,98	0,20	0,2	0,6
	20	20	2,06	2,06	0,15	0,1	0,4
	20	20	2,18	2,27	0,09	0,1	0,3
	20	20	2,26	2,35	0,11	0,1	0,4

SD = Standardabweichung $\leq 0,35$ (log IE/mL).

[Abweichung] = Abweichung von der Richtigkeit $\leq 0,5$ (log IE/mL).

Die der LLoQ-Konzentration entsprechende und mit jeder Reagenziencharge getestete Verdünnung, ist grau hinterlegt.

Untere Quantifizierungsgrenze unter Verwendung des WHO-Standards in Urin

Die LLoQ wurde bestimmt durch Testung von Panels des 1. internationalen WHO-Standards (NIBSC-Code 14/212) für BKV, die in BKV-negativem Humanurin verdünnt wurden. Zwanzig (20) Replikate jeder Verdünnung wurden mit je drei Reagenzchargen getestet, was je Verdünnung insgesamt 60 Replikate ergab. Die LLoQ-Ergebnisse für die drei Reagenzchargen sind in Tabelle 7 dargestellt. Die mit dem 1. internationalen WHO-Standard generierte LLoQ für BKV in Urin beträgt 162 IE/mL (2,21 log IE/mL).

Tabelle 7: Bestimmung der LLoQ unter Verwendung des 1. internationalen WHO-Standards für BKV in Urinverdünnung

Reagenzcharge	N	N nachgewiesen	Target- Konzentration (log IE/mL)	BKV Quant Assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	[Abweichung] (log IE/mL)	Berechneter TE (log IE/mL)
1	20	20	2,21	2,09	0,24	0,2	0,7
	20	20	2,26	2,15	0,20	0,2	0,5
	20	20	2,30	2,15	0,23	0,2	0,7
	20	20	2,38	2,27	0,20	0,2	0,6
2	20	20	2,21	1,98	0,22	0,2	0,7
	20	20	2,26	2,14	0,27	0,2	0,7
	20	20	2,30	2,23	0,20	0,2	0,6
	20	20	2,38	2,27	0,25	0,2	0,7
3	20	20	2,21	1,97	0,24	0,3	0,7
	20	20	2,26	2,03	0,22	0,3	0,7
	20	20	2,30	2,08	0,18	0,2	0,6
	20	20	2,38	2,13	0,23	0,3	0,7

SD = Standardabweichung $\leq 0,35$ (log IE/mL).[Abweichung] = Abweichung von der Richtigkeit $\leq 0,5$ (log IE/mL).

Die der LLoQ-Konzentration entsprechende und mit jeder Reagenziencharge getestete Verdünnung, ist grau hinterlegt.

Bestimmung der unteren Qualifizierungsgrenze bei BKV-Genotypen

Untere Quantifizierungsgrenze bei Genotypen in Plasma

Die unter Verwendung des WHO-Standards etablierte LLoQ wurde durch Testung von BKV Genotypen I (1b-2) und IV beurteilt, die mit dem Dreifachen der LLoQ in EBV-negativem Humanplasma versetzt wurden. Es wurden drei Replikate jeder Panelprobe mit einer Reagenzcharge getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Bestätigung der LLoQ bei Genotypen in Plasma

Isolat (Genotyp)	N	N nachgewiesen	Target- Konzentration (log IE/mL)	BKV Quant Assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	[Abweichung] (log IE/mL)
Genotyp I (1b-2)	3	3	2,37	2,59	0,08	0,2
Genotyp IV	3	3	2,37	2,25	0,05	0,1

SD = Standardabweichung.

Untere Quantifizierungsgrenze bei Genotypen in Urin

Die unter Verwendung des WHO-Standards etablierte LLoQ wurde durch Testung von BKV Genotypen I (1b-2) und IV beurteilt, die in BKV-negativem Humanurin verdünnt wurden. Es wurden drei Replikate jeder Panelprobe mit einer Reagenzcharge getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Bestätigung der LLoQ bei Genotypen in Urin

Isolat (Genotyp)	N	N nachgewiesen	Target-Konzentration (log IE/mL)	BKV Quant Assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	[Abweichung] (log IE/mL)
Genotyp I (1b-2)	3	3	2,69	2,43	0,27	0,0
Genotyp IV	3	3	2,69	2,57	0,16	0,2

SD = Standardabweichung.

Rückführbarkeit auf den 1. internationalen WHO-Standard

Für die Etablierung der Rückführbarkeit auf den WHO-Standard wurde während der gesamten Produktentwicklung und Produktfertigung eine Reihe sekundärer Standards mit bekannten Konzentrationen verwendet. Der 1. BKV-WHO-Standard wurde zusammen mit den sekundären Standards verdünnt und getestet, sowie mit Assaykontrollen und Kalibratoren, die im Panther Fusion BKV Quant Assay verwendet werden, um die Rückführbarkeit gemäß CLSI EP32-R zu beurteilen.⁹ Die sekundären Standards variierten zwischen Konzentrationen von 2,30 bis 6,30 log₁₀ IE/mL.

Rückführbarkeit auf den WHO-Standard unter Verwendung von Plasma

Die für den 1. BKV-WHO-Standard getesteten Konzentrationen lagen zwischen 2,07 und 4,70 log IE/mL. Die WHO-Plasmapaneln, sekundären Standards, Assaykontrollen und Assay-Kalibratoren wurden im linearen Bereich des Assays wie erwartet wiederhergestellt, wie in Abbildung 5 zu sehen ist.

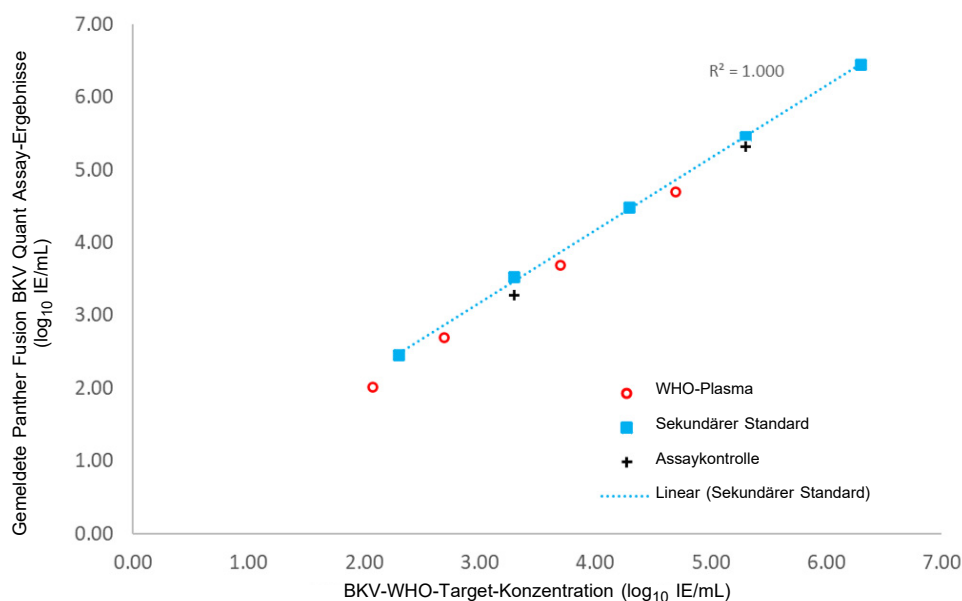


Abbildung 5. Rückführbarkeit zwischen den Target-Konzentrationen und gemeldeten Konzentrationen des 1. BKV-WHO-Standards im Panther Fusion BKV Quant Assay (in Plasma verdünnter WHO-Standard)

Rückführbarkeit auf den WHO-Standard unter Verwendung von Urin

Die für den 1. BKV-WHO-Standard getesteten Konzentrationen in Urin lagen zwischen 2,38 und 5,00 log₁₀ IE/mL. Die WHO-Urinpanels, sekundären Standards, Assaykontrollen und Assay-Kalibratoren wurden im linearen Bereich des Assays wie erwartet wiederhergestellt, wie in Abbildung 6 zu sehen ist.

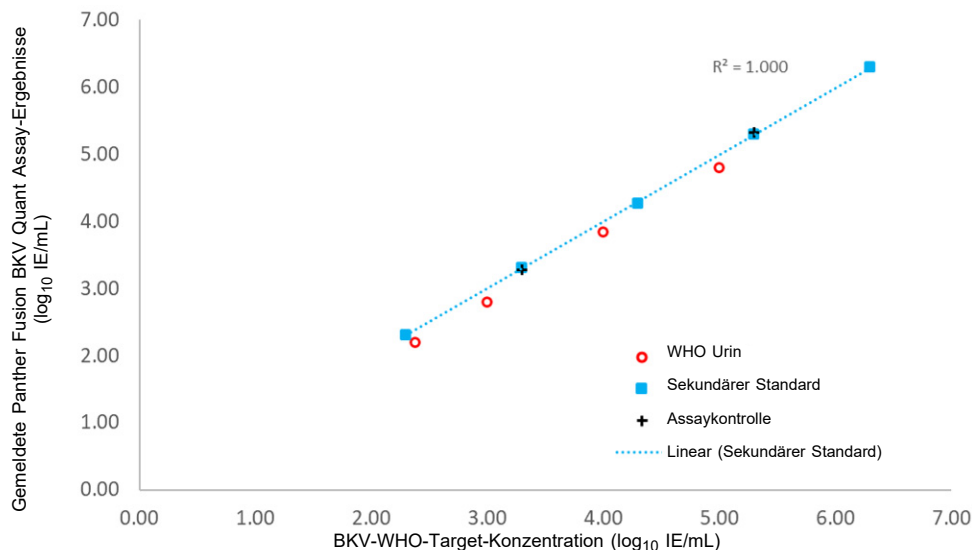


Abbildung 6. Rückführbarkeit zwischen den Target-Konzentrationen und gemeldeten Konzentrationen des 1. BKV-WHO-Standards im Panther Fusion BKV Quant Assay (in Urin verdünnter WHO-Standard)

Innerhalb der Laborpräzision

Urin

Für die Beurteilung innerhalb der Laborpräzision wurden ein Negativpanel und ein Panel mit 3 Proben erstellt, indem BKV-DNA in BKV-negativem Urin verdünnt wurde. Die positiven und negativen Panels wurden von 2 Anwendern unter Verwendung von 3 Reagenzchargen auf 3 Panther Fusion Systemen an 6 nicht aufeinanderfolgenden Testtagen getestet. Jeder Anwender führte 2 Durchläufe pro Tag durch und jede Panelprobe wurde in jedem Durchlauf dreifach getestet. Die Studie wurde gemäß den Empfehlungen des CLSI EP-05-A3 entworfen und analysiert.¹⁰

Tabelle 10 zeigt die Reproduzierbarkeit der Assay-Ergebnisse (in log IE/mL) für das positive Panel zwischen Geräten, Anwendern, Kassettencargen, Durchläufen, Tagen, innerhalb von Durchläufen und gesamt. Die Gesamtvariabilität war hauptsächlich durch die Variabilität zwischen den Durchläufen bestimmt (d. h. durch Zufallsfehler). Alle Replikate des negativen Panels waren negativ.

Tabelle 10: Reproduzierbarkeit des Panther Fusion BKV Quant Assays in Urin

N	Mittlere Konzentration (log IE/mL)	Zwischen Lot (Charge)	Vergleich Geräte	Vergleich Anwender	Zwischen Tagen	Zwischen Durchläufen	Innerhalb von Durchläufen	Gesamt
		SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
54	2,59	0,06	0,08	0,02	0,08	0,14	0,13	0,16
54	3,55	0,08	0,04	0,01	0,02	0,05	0,25	0,10
54	4,58	0,07	0,01	0,01	0,01	0,06	0,28	0,07

SD = Standardabweichung.

Mögliche interferierende Substanzen

Die Anfälligkeit des Panther Fusion BKV Quant Assays gegenüber Interferenzen durch erhöhte Konzentrationen endogener Stoffe, Antikoagulanzen und von Wirkstoffen, die Patienten mit einer Transplantation häufig verordnet werden, wurde in BKV-negativen Matrizen bei Vorhandensein oder Abwesenheit von jeweils 2,37 log IE/mL und 2,69 log IE/mL BKV in Plasma und Urin evaluiert. Die Testkonzentrationen für jede der interferierenden Substanzen wurden basierend auf den verfügbaren Literaturreferenzen und der Orientierungshilfe durch CLSI EP07¹¹ und EP37 ausgewählt.¹²

Es wurde keine Interferenz der Quantifizierungsgenauigkeit in Plasma- oder Urinproben bei Vorhandensein von potenziell interferierenden Substanzen beobachtet, die in Tabelle 11 und Tabelle 12 aufgeführt sind.

Tabelle 11: Endogene Stoffe in Plasma

Potenziell interferierende Substanzen	Anzahl der Replikate	Getestete Konzentration
Albumin	3	375 mg/dL
Konjugiertes Bilirubin	3	40 mg/dL
Hämoglobin	3	1000 mg/dL
Human Genomic DNA	3	0,2 mg/dL
Triglyzeride	3	3,45 mg/dL
Unkonjugiertes Bilirubin	3	0,40 mg/dL

Tabelle 12: Endogene Stoffe in Urin

Potenziell interferierende Substanzen	Anzahl der Replikate	Getestete Konzentration
Albumin	3	375 mg/dL
Konjugiertes Bilirubin	3	40 mg/dL
Estradiol	3	8E-05 mg/dL
Glukose	3	220 mg/dL
Mucin	3	6 mg/dL
Periphere mononukleäre Blutzellen	3	1E+06 Zellen/mL
pH, sauer (HCl)	3	2 mM
pH, alkalisch (NaOH)	3	0,2 mM
Samen	3	5 %
Vollblut	3	2 %

Es wurde keine Interferenz der Quantifizierungsgenauigkeit bei Vorhandensein der in Tabelle 13 und Tabelle 14 aufgeführten exogenen Stoffe beobachtet.

Tabelle 13: Exogene Stoffe für Plasma

Potenziell interferierende Substanzen	Anzahl der Replikate	Getestete Konzentration
Acyclovir	3	6,6 mg/dL
Azathioprin	3	0,258 mg/dL
Cefotetan	3	71,1 mg/dL
Cidofovir	3	12,4 mg/dL
Clavulanate Kalium	3	1,47 mg/mL
Cyclosporin	3	0,180 mg/dL
Everolimus	3	0,0183 mg/dL
Fluconazol	3	2,55 mg/dL
Foscarnet	3	108 mg/dL
Ganciclovir	3	3,96 mg/dL
Letermovir	3	3,9 mg/dL
Micafungin	3	6,6 mg/dL
Mycophenolatmofetil	3	18,1 mg/dL
Mycophenolatmofetil verwandte Verbindung B	3	18,1 mg/dL
Naproxen	3	36 mg/dL
Piperacillin	3	110 mg/dL
Prednison	3	0,099 µg/dL
Sirolimus	3	0,0213 mg/dL
Sulfamethoxazol	3	35,7 mg/dL
Tacrolimus	3	0,0144 mg/dL
Tazobactam-Natrium	3	10,2 mg/dL
Ticarcillin disodium	3	151 mg/dL
Trimethoprim	3	4,2 mg/dL
Valganciclovir	3	4,83 mg/dL
Vancomycin	3	12 mg/dL

Tabelle 14: Exogene Stoffe für Urin

Potenziell interferierende Substanzen	Anzahl der Replikate	Getestete Konzentration
Paracetamol	3	3 mg/dL
Acetylsalicylsäure	3	3 mg/dL
Clotrimazol	3	0,50 mg/dL
Ibuprofen	3	21,9 mg/dL
Metronidazol	3	12,3 mg/dL
Naproxen	3	36 mg/dL
Phenazopyridinhydrochlorid	3	79,5 ng/dL
Propylenglykol	3	135 mg/dL
Talkum	3	5 mg/dL

Analytische Spezifität

Die potenzielle Kreuzreaktivität auf die in Tabelle 15 gelisteten Pathogene wurde in BKV-negativen Matrizen bei Vorhandensein oder Abwesenheit von BKV mit 2,37 log IE/mL und 2,69 log IE/mL in Plasma bzw. Urin beurteilt. Die Pathogene wurden mit der höchsten verfügbaren Konzentration getestet. Es wurde keine Kreuzreaktivität oder Interferenz in der Quantifizierungsgenauigkeit beobachtet.

Tabelle 15: Zur Ermittlung der Analysespezifität getestete Erreger

Mikroorganismus/Keim	Konzentration	Mikroorganismus/Keim	Konzentration
ADV-5	1,00E+05 TCID ₅₀ /mL	Humanes Herpesvirus 7	1,00E+03 TCID ₅₀ /mL
<i>Aspergillus niger</i>	1,00E+06 KBE/mL	Humanes Herpesvirus 8	1,00E+05 TCID ₅₀ /mL
<i>Bacillus cereus</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06 cp/mL
<i>Bacillus subtilis</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Candida glabrata</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Candida parapsilosis</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Mycobacterium avium</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Candida tropicalis</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 CCU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,00E+06 IFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1,00E+06 KBE/mL	Humanes Parvovirus B19	1,00E+05 IE/mL
CMV	1,00E+05 cp/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06 KBE/mL
EBV	1,00E+05 cp/mL	<i>Salmonella enterica</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Enterococcus faecium</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,00E+06 KBE/mL
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 KBE/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,00E+06 KBE/mL

Tabelle 15: Zur Ermittlung der Analysespezifität getestete Erreger (Fortsetzung)

Mikroorganismus/Keim	Konzentration	Mikroorganismus/Keim	Konzentration
HBV	1,00E+05 IE/mL	<i>Streptococcus bovis</i>	1,00E+06 KBE/mL
HCV	1,00E+04 IE/mL	<i>Streptococcus oralis</i>	1,00E+06 KBE/mL
HIV-1	1,00E+05 IE/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 KBE/mL
HIV-2	1,00E+04 IE/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 KBE/mL
HSV-1	1,00E+06 TCID ₅₀ /mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,00E+05 Trophozoiten/mL
HSV-2	1,00E+04 TCID ₅₀ /mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1,00E+06 cp/mL
HPV-16 (mit SiHa-Zellen infiziert)	1,00E+05 Zellen/mL	Varicella-Zoster-Virus	1,00E+05 cp/mL
Humanes Herpesvirus 6	1,00E+05 cp/mL	—	—

CCU/mL = Kolonie-ändernde Einheiten (Colony Changing Units)/mL

KBE/mL = Koloniebildende Einheiten pro mL.

cp/mL = Viruskopien pro mL.

IFU/mL = Einschlusskörper-bildende Einheiten pro mL.

IE/mL = Internationale Einheiten pro mL.

TCID₅₀/mL = Gewebekultur-Infektionsdosis - Einheiten pro mL.

Methodenkorrelation

Diese Studie wurde gemäß CLSI EP09c entworfen.¹³

Die Leistung des Panther Fusion BKV Quant Assays wurde gegenüber einem Vergleichsassay beurteilt, indem retrospektiv entnommene Patientenproben und künstliche Patientenproben getestet wurden, die den gesamten linearen Bereich abdecken.

Plasma-Methodenkorrelation

Für die Deming-Regression wurden insgesamt 108 Patientenproben innerhalb des linearen Bereichs der beiden Assays gemeinsam verwendet und ein Korrelationskoeffizient von 99,52 % in Plasma nachgewiesen, wie in Abbildung 7 dargestellt.

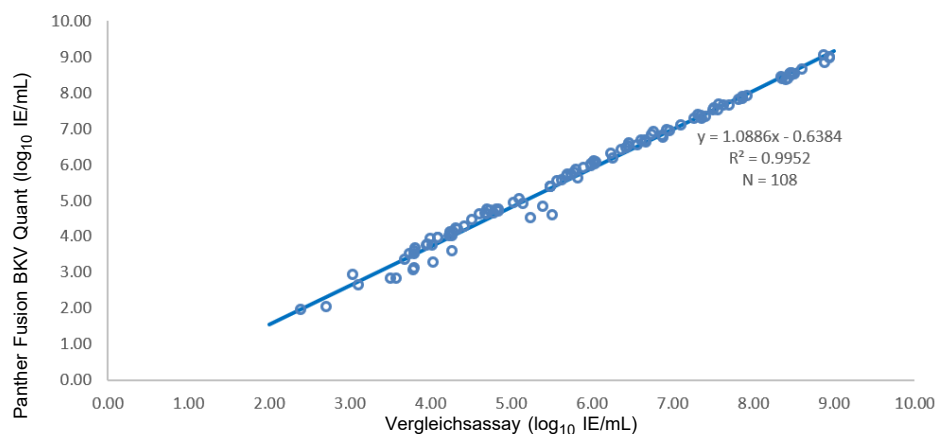


Abbildung 7. Korrelation zwischen BKV-Viruslast auf dem Panther Fusion BKV Quant Assay und dem Vergleichsassay beim Testen von Plasmaproben

Urin-Methodenkorrelation

Für die Deming-Regression wurden insgesamt 153 Patientenproben innerhalb des linearen Bereichs der beiden Assays gemeinsam verwendet und eine Korrelation von 98,91 % in Urin nachgewiesen, wie in Abbildung 8 dargestellt.

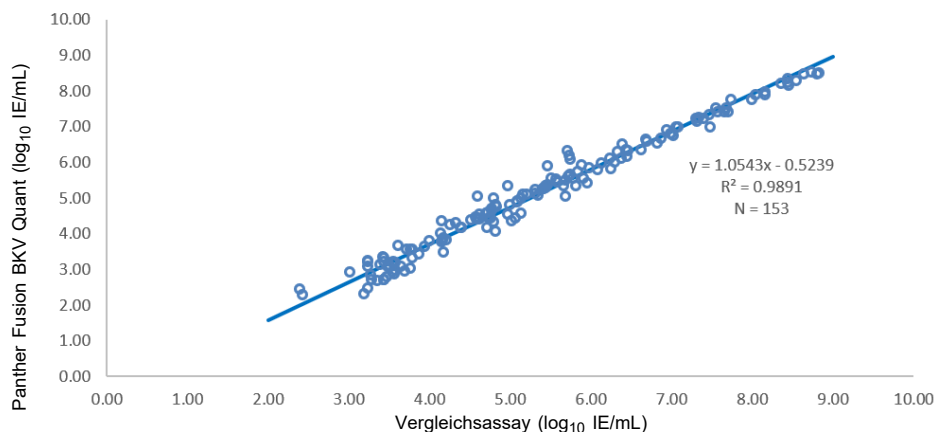


Abbildung 8. Korrelation zwischen BKV-Viruslast auf dem Panther Fusion BKV Quant Assay und dem Vergleichsassay beim Testen von Urinproben

Wie in Tabelle 16 dargestellt, wurde eine hohe Übereinstimmung innerhalb des gemeinsamen Quantifizierungsbereichs zwischen dem Panther Fusion BKV Quant-Assay und dem Vergleichsassay für EDTA-Plasma und für Urinproben nachgewiesen.

Tabelle 16: Klinische Übereinstimmung für Plasma und Urinproben

	Plasmaproben	Urinproben
% PPA	98,3 (KI 95 % - 94,1 bis 99,5)	100,0 (KI 95 % - 97,7 bis 100,0)
% NPA	100,0 (KI 95 % - 97,9 bis 100,0)	100,0 (KI 95 % - 97,3 bis 100,0)

Verschleppung/Kreuzkontamination

Die Beurteilung der Verschleppung erfolgte anhand von hochtitrigen, mit BKV versetzten STM-Proben (1,00E+09 IE/mL), die im Schachbrettmuster zwischen BKV-negativen Proben verteilt waren. Zur Testung wurden 5 Durchläufe durchgeführt. Die Gesamtverschleppungsrate betrug 0,00 % (0/150).

Literatur

1. Muhsin SA, Wojciechowski D. 2019. BK Virus In transplant recipients: current perspectives. *Transpl Res Risk Manag.* 11:47-58.
2. van Aalderen MC, Heutinck KM, Huisman C, et al. 2012. BK virus infection in transplant recipients: clinical manifestations, treatment options and the immune response. *Neth J Med.* May;70(4):172-183. PMID:264162
3. Hirsch HH, Randhawa PS, AST Infectious Diseases Community of Practice. 2019. BK polyomavirus in solid organ transplantation–Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant.* Sep;33(9): e13528. doi:10.1111/ctr.13528. Epub 2019 Apr 10. PMID:30859620
4. Dalianis T, Ericksson BM, Felldin M, et al. 2019. Management of BK-virus infection–Swedish recommendations. *Infect Dis (Lond).* 51(7):479-484. doi:10.1080/23744235.2019.1595130
5. 1st WHO International Standard for BK Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 14/212, Version 3.0).
6. Clinical & Laboratory Standards Institute. Document M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI Website <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (4. April 2022)
7. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guidelines – Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, PA.
8. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guidelines. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
9. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
10. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2014. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-03. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
11. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Interference testing in Clinical Chemistry – Third Edition. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
12. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI document EP37, 1st Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI document EP09c, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Kontaktinformationen und Änderungsprotokoll



Diagenode S.A.
3, Rue du Bois Saint Jean
4102 Seraing, Belgium



UK Responsible Person:
Hologic Ltd.
Oaks Business Park, Crewe Road
Wythenshawe, Manchester, M23 9HZ
United Kingdom

Australischer Sponsor:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park, NSW 2113, Australien

Die E-Mail-Adresse und Telefonnummer des länderspezifischen technischen Kundendienstes und des Kundendienstes finden Sie auf <http://www.hologic.com/support>.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion und die zugehörigen Logos sind Marken und/oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den USA und/oder anderen Ländern.

Quasar ist eine registrierte Marke und ist lizenziert von Biosearch Technologies, Inc.

Alle anderen Marken, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, gehören dem jeweiligen Eigentümer.

Dieses Produkt kann unter einem oder mehreren US-Patent(en) geschützt sein, zu finden unter www.hologic.com/patents.

©2022-2025 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

AW-26020-801 Rev. 003
2025-02

Änderungsprotokoll	Datum	Beschreibung
AW-26020-001 Rev.002	Dezember 2023	Abschnitt Entnahme, Bearbeitung und Lagerung von Patientenproben aktualisiert
AW-26020-001 Rev. 003	Februar 2025	- Abschnitt Entnahme, Bearbeitung und Lagerung von Patientenproben aktualisiert. - Erforderliche Materialien aktualisiert. - Gefahrenhinweise auf die neuesten SDB aktualisiert. - Abschnitt Leistung aktualisiert. - Tabellen 11, 12, 13 und 14 aktualisiert. - Tabelle 16 hinzugefügt. - Abschnitt Methodenkorrelation aktualisiert. - Routinemäßige administrative Bearbeitungen