

BKV Quant Assay (Panther Fusion® System)

Til *in vitro* diagnostisk brug

Kun til eksport fra USA

INDHOLD

Generelle oplysninger	2
Tilsigtet anvendelse	2
Resumé og forklaring af testen	2
Procedureprincipper	2
Advarsler og forholdsregler	4
Krav til opbevaring og håndtering af reagens	6
Prøveudtagning, behandling og opbevaring	7
Prøver på Panther Fusion systemet	8
Prøvetransport	9
Panther Fusion System	10
Reagenser og materialer til Panther Fusion BKV Quant Assay	10
Nødvendige materialer og anskaffes separat	11
Valgfri materialer	12
Testprocedure for Panther Fusion System	12
Procedurebemærkninger	17
Kvalitetskontrol	18
Kalibrering af assayet	18
Negative og positive kontroller	18
Intern kontrol	18
Tolkning af resultater	19
Begrænsninger	20
Præstation	21
Detektionsgrænse ved brug af 1. internationale WHO-standard	21
Lineært område	22
Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af 1. internationale WHO-standard	23
Bekræftelse af den nedre kvantiteringsgrænse på tværs af BKV genotyper	25
Sporbarhed til 1. internationale WHO-standard	26
Inden for laboratoriepræcision	27
Potentielt interfererende stoffer	28
Analytisk specificitet	30
Korrelation mellem metoder	31
Overførsel/krydskontaminering	32
Bibliografi	33
Kontaktoplysninger og revisionshistorik	34

Generelle oplysninger

Tilsigtet anvendelse

Panther Fusion® BKV Quant assayet er en fuldt automatiseret realtids PCR (RT-PCR) *in vitro* nukleinsyreamplifikationstest til kvantitering af humant BK virus (BKV) DNA i humant plasma og urinprøver.

Panther Fusion BKV Quant assayet er beregnet til brug til at hjælpe i diagnosen og til at hjælpe i behandlingen af patienter med solidt-organtransplantat og af patienter med hæmatopoietisk stamcelletransplantat.

Panther Fusion BKV Quant assayet er ikke beregnet til brug som en screeningstest for tilstedeværelse af BKV i plasma eller urin. Dette assay er designet til anvendelse på Panther Fusion systemet.

Resumé og forklaring af testen

BKV er et hyppigt forekommende lille ikke-kappekklædt virus med lukket cirkulært dobbeltstrengt DNA-genom. BKV er et humant polyomavirus, der tilhører papovaviridae-familien.

Primær udsættelse for BKV forekommer i barndommen, hvilket resulterer i, at 80 til 90% af voksne har udviklet antistoffer mod BKV. Størstedelen af de primære BKV infektioner er asymptomatiske eller minimalt symptomatiske. Efter primær infektion menes virusset at forblive latent i urinvejen uden sygdomstegn hos immunkompetente personer.¹

Viral reaktivering forekommer hos immunkompromitterede personer og forekommer hyppigt hos patienter med nyretransplantat og patienter med hæmatopoietisk stamcelletransplantat (HSCT). Hos patienter med nyretransplantat er BKV reaktivering forbundet med nefropati (BKVN) og uretral stenose, BKVN forekommer hos ca. 5% af patienter med nyretransplantat inden for et år efter transplantation. BKV reaktivering er vigtig for HSCT modtagere med hæmoragisk cystitis med sen begyndelse, der forekommer hos 6% til 29% af patienterne inden for 2 måneder efter transplantation.²

Kvantitativ nukleinsyreamplifikationstestning fra plasma- eller urinprøver er en vigtig laboratoriemarkør til diagnose og overvågning af BKV infektion hos transplantatrecipienter. Nylige retningslinjer anbefaler, at patienter med nyretransplantat regelmæssigt screenes for BKV DNA niveauer i plasma post-transplantat for at identificere de patienter, der overvejes til forebyggende behandling for nefropati. Risikoen for at udvikle BKVN øges, når der iagttages høje niveauer af BKV DNA i plasma eller urin, men kan forekomme hos patienter med lavere BKV niveauer.^{3,4}

Procedureprincipper

Panther Fusion systemet automatiserer fuldt ud prøvebehandling, herunder cellyse, nukleinsyrecapture, amplifikation og detektion for Panther Fusion BKV Quant assayet. Panther Fusion BKV Quant assayet targeterer det højt konserverede VP2 gen for at sikre en nøjagtig kvantitering af BKV DNA. Assayet er standardiseret i henhold til 1. internationale WHO-standard (NIBSC-kode: 14/212) for BKV.⁵

Prøvebehandling og nukleinsyre-capture: En intern kontrol (IC-B) tilføjes automatisk til hver prøve via Fusion Capture-arbejdsreagens-B (wFCR-B) til at overvåge for interferens under prøvebehandling, amplifikation og detektion af fejl, forårsaget af fejlfunktion af reagens eller hæmmende stoffer. Prøver tilsættes først Fusion Capture Reagens-B (FCR-B) og Fusion Enhancer-reagens-B Fo (FER-B) for at frigive nukleinsyre for hybridisering til magnetiske partikler. Capture partiklerne adskilles derefter fra den resterende prøvematrix i et magnetisk felt med en række vasketrin med en mild sæbe. De indfangede nukleinsyrer elueres derefter fra magnetiske partikler med et reagens med lav ionstyrke (Panther Fusion Elueringsbuffer).

Bemærkning: Panther Fusion systemet tilsætter IC-B til FCR-B. Når IC-B er tilsat til FCR-B, betegnes det som wFCR-B.

PCR-amplifikation og fluorescensdetektion: Frysetørret enkelt enhedsdosis af PCR-masterblanding rekonstitueres med Panther Fusion rekonstitueringsbuffer I og kombineres derefter med den eluerede nukleinsyre i et reaktionsrør. Panther Fusion Oliereagens tilsættes for at forhindre fordampning under PCR-reaktionen. PCR-baseret targetamplifikation opstår efterfølgende med targetspecifikke fremad- og reverse primere, der genererer et fluorescenssignal.

Panther Fusion systemet leverer en Ct værdi, der er proportionel med BKV koncentrationen i testprøverne. Prøvekoncentrationen bestemmes af Panther Fusion systemsoftwaren ved hjælp af BKV Ct værdierne for hver reaktion og ved at sammenligne dem med kalibreringskurven. BKV resultater rapporteres i IU/mL og $\log_{10}$ IU/mL for både plasma- og urinprøver. Når urinkonverteringsfaktoren vælges på Panther Fusion softwaren, anvendes automatisk en fortyndingsfaktor på 2 til BKV virusmængdens resultater til at gøre rede for fortyndingstrinnet under urinprøvebehandlingen.

De targets og de kanaler, der anvendes til deres detektion på Panther Fusion systemet, opsummeres i tabellen nedenfor:

Target	Targeteret gen	Instrumentkanal
BKV	VP2	ROX
Intern kontrol	Ikke relevant	Quasar® 705

Advarsler og forholdsregler

- A. Til *in vitro* diagnostisk brug.
- B. Til professionel brug.
- C. Læs omhyggeligt hele indlægssedlen og *Brugervejledningen til Panther®/Panther Fusion System*, før du udfører dette assay.
- D. Panther Fusion Enhancer-reagens-B (FER-B) er ætsende stof, skadeligt hvis det indtages og forårsager svære forbrændinger af huden og øjenskader.
- E. Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af dette assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre disse procedurer. Hvis der forekommer spild, skal området straks desinficeres ved hjælp af gældende procedurer på stedet.
- F. Prøver kan være infektiøse. Overhold de generelle forholdsregler ved udførelse af dette assay. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder bør fastlægges af laboratorielederen. Kun medarbejdere, der har tilstrækkelig træning i håndtering af infektiøse materialer, bør have tilladelse til at udføre denne diagnostiske procedure.⁶
- G. Rutinemæssige laboratorieforholdsregler skal følges. Der må ikke pipetteres med munden. Der må hverken spises, drikkes eller ryges i arbejdsområdet. Brug engangshandsker uden puder, beskyttelsesbriller og laboratoriekittler ved håndtering af prøver og reagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og reagenser.
- H. Brug kun medfølgende eller specificeret laboratoriemateriale til engangsbrug.
- I. Arbejdsflader, pipetter og andet udstyr skal regelmæssigt dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning.
- J. Alt materiale, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, internationale og regionale bestemmelser.
- K. Under forsendelse af prøver skal korrekte opbevaringsforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvestabilitet under forsendelsesforhold, der er anderledes end de anbefalede forhold, er ikke blevet vurderet.
- L. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Udvis især forsigtighed for at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler ved løsning eller fjernelse af hætter fra prøver. Prøver kan indeholde meget høje niveauer af virus og organismer. Pas på, at prøvebeholdere ikke kommer i berøring med hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over eventuelle åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i berøring med prøver.
- M. Brug ikke reagenserne, kalibratorerne og kontrollerne efter udløbsdatoen. Brug ikke Aptima® transportrøret til urinprøve efter dets udløbsdato.
- N. Opbevar assaykomponenter ved den anbefalede opbevaringsbetingelse. Se *Krav til opbevaring og håndtering af reagens og Testprocedure for Panther Fusion System* for flere oplysninger.
- O. Kombinér ikke assayreagenser eller væsker. Påfyld ikke reagenser eller væsker. Panther Fusion systemet verificerer reagensniveauer.
- P. Undgå mikrobiel og nukleasekontaminering af reagenser.

- Q. Kvalitetskontrolkrav skal opfyldes iht. lokale, statslige og/eller føderale bestemmelser eller iht. godkendelseskrav og dit laboratoriums standardprocedurer for kvalitetskontrol.
- R. Brug ikke assaykassetten, hvis opbevaringsposen har mistet forseglingen, eller hvis assaykassetts folie ikke er intakt. Kontakt Hologic teknisk support, hvis et af dette sker.
- S. Brug ikke væskepakkerne, hvis folieforseglingen ikke er intakt. Kontakt Hologic teknisk support, hvis dette sker.
- T. Håndtér assaykassetterne med forsigtighed. Tab eller vend ikke op og ned på assaykassetter. Undgå forlænget udsættelse for omgivende lys.
- U. Nogle reagenser af dette kit er mærket med fareoplysninger.

Bemærkning: Farekommunikation afspejler EU-sikkerhedsdatabladenes (SDS) klassificeringer. For Farekommunikationsoplysninger, der er specifikke for din region, se den regionsspecifikke SDS i biblioteket for sikkerhedsdatablad på www.hologicsds.com. For mere information om symbolerne henvises til symbolforklaringen på www.hologic.com/package-inserts.

Fareerklæring EU	
Panther Fusion BKV Quant Assaykassette ALFA-CYCLODEXTRIN 20-25%	
—	H412 – Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/holderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.
Panther Fusion Capture reagens-B (FCR-B) HEPES 15-20 % LAURYL SULFAT-LITHIUMSALT 10-15 % SUCCINSYRE 1-5% LITHIUMHYDROXID, MONOHYDRAT 1-5 %	
—	H412 – Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273 – Undgå udledning til miljøet. P501 – Indholdet/holderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.




Panther Fusion Enhancer reagens-B (FER-B)
LITHIUMHYDROXID MONOHYDRAT 5-10 %

FARE

H302 – Farlig ved indtagelse.

H314 – Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.

P264 – Vask ansigtet, hænderne og andre blottede hudområder grundigt efter brug.

P270 – Der må ikke spises, drikkes eller ryges under brugen af dette produkt.

P330 – Skyl munden.

P501 – Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.

P260 – Indånd ikke pulver/røg/gas/tåge/damp/spray.

P280 – Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

P301 + P330 + P331 – I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Skyl munden. Fremkald IKKE opkastning.

P303 + P361 + P353 – VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tilsmudset tøj tages straks af. Skyl [eller brus] huden med vand.

P304 + P340 – VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes.

P305 + P351 + P338 – VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.

P310 – Ring omgående til en GIFTINFORMATION eller en læge.

P321 – Særlig behandling (se supplerende anvisninger vedrørende førstehjælp på denne etiket).

P363 – Tilsmudset tøj skal vaskes, før det kan anvendes igen.

P405 – Opbevares under lås.

Krav til opbevaring og håndtering af reagens

A. I den nedenstående tabel vises krav til opbevaring og håndtering for dette assay.

Reagens	Opbevaring i uåbnet stand	Klar i systemet/ Åben stabilitet ¹	Åbnet opbevaring
Panther Fusion BKV Quant Assaykassette	2 °C til 8 °C	60 dage	2 °C til 8 °C ²
Panther Fusion Capture reagens-B (FCR-B)	15 °C til 30 °C	30 dage	15 °C til 30 °C
Panther Fusion Enhancer-reagens-B (FER-B)	15 °C til 30 °C	30 dage	15 °C til 30 °C
Panther Fusion intern kontrol-B (IC-B)	2 °C til 8 °C	(I wFCR-B)	Ikke relevant
Panther Fusion Elueringsbuffer	15 °C til 30 °C	60 dage	15 °C til 30 °C
Panther Fusion Olie	15 °C til 30 °C	60 dage	15 °C til 30 °C
Panther Fusion Rekonstitueringsbuffer I	15 °C til 30 °C	60 dage	15 °C til 30 °C
Panther Fusion BKV Quant kalibratorer (1-5)	-15 °C til -35 °C	Hætteglas til engangsbrug	Ikke relevant-engangsbrug
Panther Fusion EBV-BKV Quant Høj positiv kontrol	-15 °C til -35 °C	Hætteglas til engangsbrug	Ikke relevant-engangsbrug
Panther Fusion EBV-BKV Quant Lav positiv kontrol	-15 °C til -35 °C	Hætteglas til engangsbrug	Ikke relevant-engangsbrug
Panther Fusion Transplantat negativ kontrol (III)	-15 °C til -35 °C	Hætteglas til engangsbrug	Ikke relevant-engangsbrug

Når reagenserne fjernes fra Panther Fusion systemet, skal du straks returnere dem til deres korrekte opbevaringstemperaturer.

¹ Klar i systemet-stabilitet begynder på det tidspunkt, hvor reagenset placeres på Panther Fusion systemet til Panther Fusion BKV Quant assaykassetten, FCR-B, FER-B og IC-B. Klar i systemet-stabilitet for Panther Fusion Rekonstitueringsbuffer I, Panther Fusion Elueringsbuffer og Panther Fusion Oliereagens starter, når reagenspakken anvendes for første gang.

² Hvis assaykassetten fjernes fra Panther Fusion systemet, skal du opbevare den i en lufttæt beholder med tørremiddel ved den anbefalede opbevaringstemperatur.

- B. Panther Fusion capture arbejdsreagens-B (wFCR-B) og Panther Fusion Enhancer-reagens-B (FER-B) er stabile i 60 dage, når de lukkes med hætte og opbevares ved 15 °C til 30 °C. Må ikke nedkøles.
- C. Bortskaf alle ubrugte reagenser, som har overskredet deres stabilitet.
- D. Undgå krydskontaminering under håndtering og opbevaring af reagens.
- E. **Undlad at nedfryse reagenser.**
- F. **Nedfrys ikke kontroller eller kalibratorer igen.**

Prøveudtagning, behandling og opbevaring

Prøver – Klinisk materiale udtaget fra patient og overført til et relevant transportsystem. For Panther Fusion BKV Quant assayet indbefatter dette urinprøver udtaget i primær beholder, plasmaprøverne i reagensglas, som indeholder EDTA antikoagulanter eller plasma-forberedelsesglas (PPT'er).

Prøver – Er et mere generisk udtryk til beskrivelse af ethvert materiale til testning på Panther Fusion systemet herunder prøver, behandlede prøver, der er overført til et Aptima transportrør til urinprøve, kalibratorer og kontroller.

Bemærkning: *Håndtér alle prøver, som om de indeholder potentielt smitsomme stoffer. Overhold de generelle forholdsregler.*

Bemærkning: *Udvis forsigtighed for at undgå krydskontaminering under trinnene til prøvehåndtering. Bortskaf fx brugte materialer uden at føre dem hen over åbne rør.*

Bemærkning: *Der må kun bruges sekundære reagensglas i plast til prøveopbevaring.*

A. Prøveudtagning

1. Helblodsprøver udtaget i følgende typer glas- eller plastrør kan anvendes til at klargøre plasma:
 - Reagensglas, som indeholder EDTA antikoagulanter
 - Plasma-forberedelsesglas (Plasma Preparation Tubes, PPT'er).
2. Urinprøver skal udtages i et bæger.
 - Efter opsamling skal urinprøver i den primære opsamlingsbeholder overføres inden for en time ved 30 °C eller inden for 6 timer, hvis prøven opbevares mellem 2 °C og 8 °C, til Aptima urinprøvetransportrøret.
 - Før urinprøver kan testes, skal urinen i det primære bæger blandes grundigt ved inversion inden overførsel til Aptima transportrøret til urinprøve, der indeholder urintransportmedium.

B. Prøvebehandling

1. Prøvebehandling af plasma:
 - Fuldblod kan opbevares ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer fra prøveudtagningen.
 - Plasma kan forberedes fra enten EDTA eller PPT primære reagensrør.
 - Plasmaet skal separeres fra de pelleterede røde blodlegemer ifølge producentens anvisninger til det anvendte reagensrør.

- Plasma kan testes på Panther Fusion-systemet i et primært rør eller overføres til et sekundært rør som f.eks. et Aptima® Specimen Aliquot Tube (SAT). For at sikre tilstrækkelig prøvemængde, se den følgende tabel:

Tabel 1: Mindste prøvemængde

Rør (størrelse og type)	Mindste mængde for 1 replikat
Aptima rør til prøvealiquot (SAT)	0,6 mL
12 x 75 mm	0,9 mL
13 x 100 mm	0,9 mL
13 x 100 mm med gel	0,7 mL
16 x 100 mm med gel	1,1 mL

- Hvis det ikke skal testes med det samme, kan plasma opbevares i overensstemmelse med *Prøveopbevaringsbetingelser*.
- Hvis plasmaet overføres til et sekundært rør, kan det nedfryses ved -20 °C.
- Nedfrys ikke plasmaprøver i EDTA primære reagensglas til prøveudtagning.

2. Urinprøvebehandling:

- Overfør 2000 µl urin inden for en time ved 30 °C eller inden for 6 timer ved opbevaring mellem 2 °C og 8 °C til et Aptima-urintransportrør (se *Urinprøvehåndtering* for prøvehåndtering).
- Udskift hættten, og bland forsigtigt prøven i mindst 5 sekunder.

C. Prøveopbevaringsbetingelser

Prøver kan opbevares under én af de følgende betingelser:

1. Plasmastabilitet

- Ubehandlede prøver er stabile i 24 timer ved 2 °C til 30 °C efter centrifugering.
- Ubehandlede prøver er stabile i 5 dage ved 2 °C til 8 °C efter centrifugering.
- Ubehandlede og behandlede prøver er stabile i 60 dage ved -20 °C efter centrifugering.
- Frosne prøver er også stabile i op til tre nedfrysningsoptøningscyklusser.

2. Stabilitet af urinprøve

- Ubehandlede prøver er stabile i 6 timer ved 2 °C til 8 °C eller 1 time ved 30 °C.
- Behandlede prøver er stabile i 24 timer ved 2 °C til 30 °C.
- Behandlede prøver er stabile i 5 dage ved 2 °C til 8 °C.
- Behandlede prøver er stabile i 60 dage ved -20 °C.
- Frosne prøver er også stabile i op til tre nedfrysningsoptøningscyklusser.

Prøver på Panther Fusion systemet

Plasma og behandlede urinprøver kan efterlades på Panther Fusion systemet uden hætte i op til 8 timer. Prøver kan fjernes fra Panther Fusion systemet og testes, så længe den samlede tid på systemet ikke overstiger 8 timer, før Panther Fusion systemet pipetterer prøven.

Prøvetransport

Bevar prøveopbevaringsbetingelser under transport, som beskrevet under *Prøveudtagning, behandling og opbevaring*.

Bemærkning: *Prøver skal forsendes i henhold til gældende nationale, internationale og regionale transportregulativer.*

Panther Fusion System

Panther Fusion systemet er et integreret system til nukleinsyretestning, som fuldstændigt automatiserer alle nødvendige trin til udførelse af forskellige Panther Fusion assays fra prøvebehandling til amplifikation, detektion og datareduktion.

Reagenser og materialer til Panther Fusion BKV Quant Assay

Assayemballage

Komponenter	Delnr.	Opbevaring
Panther Fusion BKV Quant Assaykalibratorer		
PCAL 1 qBKV, 3 pr. æske	PRD-07234	-15 °C til -35 °C
PCAL 2 qBKV, 3 pr. æske		
PCAL 3 qBKV, 3 pr. æske		
PCAL 4 qBKV, 3 pr. æske		
PCAL 5 qBKV, 3 pr. æske		
Panther Fusion EBV-BKV Quant Assaykontroller		
HPC Reagensglas til Høj positiv kontrol, 5 pr. æske	PRD-07158	-15 °C til -35 °C
LPC Reagensglas til Lav positiv kontrol, 5 pr. æske		
NC III Transplantat, reagensglas til negativ kontrol, 5 pr. æske		
Panther Fusion BKV Quant Assaykassette 96 tests		
Panther Fusion qBKV assaykassette, 12 tests, 8 pr. æske	PRD-07232	2 °C til 8 °C
Panther Fusion intern kontrol-B 960 tests		
Panther Fusion intern kontrol-B reagensglas, 4 pr. æske	PRD-06234	2 °C til 8 °C
Panther Fusion Ekstraktionsreagens-B, 960 tests		
Panther Fusion Capture Reagens-B-flaske, 240 tests, 4 pr. æske	PRD-06232	15 °C til 30 °C
Panther Fusion Enhancer-reagens-B-flaske, 240 tests, 4 pr. æske		
Panther Fusion Elueringsbuffer 2400 Tests		
Panther Fusion Elueringsbuffer-pakke, 1200 tests, 2 pr. æske	PRD-04334	15 °C til 30 °C
Panther Fusion Rekonstitueringsbuffer I 1920 Tests		
Panther Fusion Rekonstitueringsbuffer I, 960 tests, 2 pr. æske	PRD-04333	15 °C til 30 °C
Panther Fusion Oliereagens 1920 Tests		
Panther Fusion Oliereagens, 960 tests, 2 pr. æske	PRD-04335	15 °C til 30 °C

Nødvendige materialer og anskaffes separat

Bemærkning: For materialer, der fås fra Hologic, er katalognummeret anført, medmindre andet er angivet.

Materiale	Kat. nr.
Panther® System	303095
Panther Fusion® Modul	PRD-04173
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther System, Kontinuerlig væske og affald (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® Assay Fluids Kit (Aptima Assay væskekit) (Aptima Wash Solution (Aptima vaskeopløsning), Aptima Buffer for Deactivation Fluid (Aptima buffer til deaktiveringsvæske) og Aptima Oil Reagent (Aptima oliereagens))	303014 (1000 tests)
Multireagensglasenheder (Multi-tube units, MTU'er)	104772-02
Panther Waste Bag Kit (affaldsposekit)	902731
Panther Waste Bin Cover (Panther affaldsbin-afdækning)	504405
Eller Panther System kørselskit indeholder MTU'er, affaldsposer, afdækninger til affaldsbin, assayvæsker og automatiske detektioner*	303096 (5000 tests)
Spidser, 1000 µL, filtrerede, væskeregistrering, ledende og til engangsbrug: Ikke alle produkter er tilgængelige i alle regioner. Kontakt din repræsentant for regionsspecifik information.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Panther Fusion bakker til reagensglas, 1008 tests, 18 bakker pr. æske	PRD-04000
Aptima transportrør til urinprøve kun til behandling af urinprøver	105575 (100 for-fyldte rør pr. pose)
Hologic uigennemtrængelige udskiftningshætter (engangshætte til reagensglas)	PRD-06720 (100 hætter pr. pose)
Blegemiddel 5 % til 8,25% (0,7 M til 1,16 M) natriumhypochloritopløsning	
Bemærk: Se <i>Brugervejledning til Panther/Panther Fusion System</i> for instruktioner om tilberedning af fortyndet natriumhypochloritopløsning.	—
Engangshandsker uden pudder	—
Beskyttelsespapir til laboratoriebord med plastikbagside	—
Fnugfri servietter	—
Pipette	—
Spidser	—
Primære reagensglas til prøveudtagning (EDTA og PPT), valgmuligheder: 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

*Kræves kun til Panther Aptima TMA assays.

Valgfri materialer

Materiale	Kat. nr.
Valgmuligheder for sekundærrør:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-rør til prøvealiquot (SATs) (100 stk.)	FAB-18184
Hætte til transportrør (pakke med 100 stk.) <i>hætte til SAT</i>	504415
Aptima prøvefortynder	PRD-03003
Aptima prøvefortynderkit <i>indeholder Aptima prøvefortynder, 100 SAT'er og 100 hætter</i>	PRD-03478
Overførselspipetter	—
Reagensglasryster	—

Testprocedure for Panther Fusion System

Bemærkning: Se Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System for yderligere information vedrørende procedure.

A. Klargøring af arbejdsområde

1. Tør arbejdsoverfladerne af med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning. Lad natriumhypochloritopløsningen blive på overfladerne i mindst 1 minut, og skyl efter med demineraliseret (DI) vand. Natriumhypochloritopløsningen må ikke tørre. Dæk bordoverfladen med rene, absorberende afdækningsstykker med plastbagbeklædning til laboratorieborde.
2. Rengør en separat arbejdsflade, hvor prøverne skal klargøres. Følg proceduren, beskrevet herover (trin A.1).
3. Rengør eventuelle pipetter. Følg rengøringsproceduren, beskrevet herover (trin A.1).

B. Klargøring af kalibrаторer og kontroller

Lad kalibrаторerne og kontrollerne nå 15 °C til 30 °C før behandling, som følger:

1. Fjern kalibrаторerne og kontroller fra opbevaring (-15 °C til -35 °C), og placér dem i temperaturer fra 15 °C til 30 °C. Vend forsigtigt op og ned på hvert rør under optøningen, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørenes indhold er tørt helt op inden brug.

Valgmulighed. Kalibrатор og kontrolrør kan lægges i et vendeapparat, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørenes indhold er tørt helt op inden brug.

Bemærkning: Sørg for, at der ikke dannes for kraftigt skum, når kalibrаторerne og kontrollerne vendes op og ned. Skum påvirker niveaumålingen negativt i Panther Fusion systemet.

2. Når rørets indhold er tørt op, skal røret tørres af udvendigt med en ren og tør engangsserviet.
3. Åbn ikke rørene endnu for at undgå kontaminering.

C. Klargøring af reagens

1. Fjern flaskerne med IC-B, FCR-B og FER-B fra opbevaring.
2. Bland FCR-B, indtil boblerne er helt udrystet. Pas på, at der ikke dannes skum i dette trin.
3. Åbn flaskerne med IC-B, FCR-B og FER-B, og bortskaf hætterne. Åbn TCR-døren på den øverste bås på Panther Fusion systemet.
4. Placer IC-B, FCR-B og FER-B-flaskerne i de relevante positioner på TCR-karrusellen.
5. Luk TCR-døren.

Bemærkning: Panther Fusion systemet tilsætter IC-B til FCR-B. Når IC-B er tilsat til FCR-B, betegnes det som wFCR-B (arbejds-FCR-B). Hvis wFCR-B og FER-B fjernes fra systemet, skal du bruge nye hætter og øjeblikkeligt opbevare det iht. de korrekte opbevaringsbetingelser.

D. Prøvehåndtering

Bemærkning: Klargør prøver i henhold til anvisningerne i afsnittet *Prøveudtagning, behandling og opbevaring*, før du isætter prøver på Panther Fusion systemet.

Efterse prøvereagensglassene, inden de sættes i stativet. Hvis et prøvereagensglas indeholder bobler eller har en lavere mængde end den, der typisk iagttages, skal du banke forsigtigt på glasset for at bringe indholdet ned i bunden.

E. Håndtering af plasmaprøve

1. Sørg for, at de behandlede prøver i primære reagensglas eller ufortyndede prøver i sekundære reagensglas opbevares korrekt i henhold til *Prøveudtagning, behandling og opbevaring*.
2. Sørg for, at frosne prøver er tøet helt op. Bland de optøede prøver i vortexmixer i 3 til 5 sekunder, så de blandes omhyggeligt.
3. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før behandlingen. Se *Prøver på Panther Fusion systemet* for yderligere oplysninger.
4. Sørg for, at hvert primære reagensglas indeholder tilstrækkelig prøve. Se Tabel 1 for mindste prøvemængde for 1 replikat.
5. Umiddelbart inden isætning af prøverne i et prøvestativ centrifugeres hver prøve ved 1000 til 3000 g i 10 minutter. Fjern ikke hætter på dette trin.

Se trin G.2 herunder for information om isætning af prøver i stativet og fjernelse af hætter.

F. Urinprøvehåndtering

1. Sørg for, at prøver i primære reagensglas eller behandlede prøver i Aptima transportrør til urinprøve opbevares korrekt i henhold til *Prøveudtagning, behandling og opbevaring*.
2. Sørg for, at nedfrosne prøver i Aptima transportrør til urinprøve er tøet fuldstændigt op.
3. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før testning på Panther Fusion systemet. Se *Prøver på Panther Fusion systemet* for yderligere oplysninger.

Bemærkning: Undgå at isætte prøver, som indeholder udfældninger, på Panther Fusion systemet.

4. Vend forsigtigt Aptima transportrørene til urinprøve op og ned mindst 3 gange, eller bland forsigtigt på en vippeanordning, indtil urinen er homogen.

Bemærkning: Undgå, at der dannes for kraftigt skum, når rørene vendes op og ned eller blandes. Skum kan påvirke niveaumålingen, som udføres af Panther Fusion systemet, negativt.

Se trin G.2 herunder for information om isætning af prøver i stativet og fjernelse af hætter.

G. Klargøring af systemet

1. For anvisninger i opsætning af Panther Fusion systemet, samt isætning af prøver, reagenser, assaykassetter og universalvæsker, se *Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System* og *Procedurebemærkninger*.
2. Isæt prøverne i prøvestativet. Udfør de følgende trin for hvert prøvereagensglas (prøve og, hvor nødvendigt, kalibratorer og kontroller):
 - a. Løsn én hætte til prøvereagensglas, men fjern den ikke helt af.
Bemærkning: *Vær især forsigtig med at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler. Løsn forsigtigt hætteerne på prøverne.*
 - b. Isæt prøvereagensglasset i prøvestativet.
 - c. Gentag trin 2.a og 2.b for hver resterende prøve.
 - d. Når prøverne er sat i prøvestativet, fjernes og bortskaffes hver prøvereagensglashætte i ét prøvestativ. For at undgå kontaminering må en hætte ikke føres hen over andre prøvestativer eller prøvereagensglas.
 - e. Brug om nødvendigt en ny engangs overførselspipette til at fjerne eventuelle bobler eller skum. Bobler i reagensglasset påvirker niveaumålingen i Panther Fusion systemet.
 - f. Når den sidste hætte er fjernet, skal prøvestativet isættes i prøvebåsen.
Bemærkning: *Hvis der køres andre assays og prøvetyper på samme tid, skal prøveholderen (retainer) sikres, før prøvestativet sættes i prøvebåsen.*
 - g. Gentag trin 2.a og 2.f for det næste prøvestativ.

H. Klargøring af system: Anvendelse af urinprøvekonverteringsfaktor

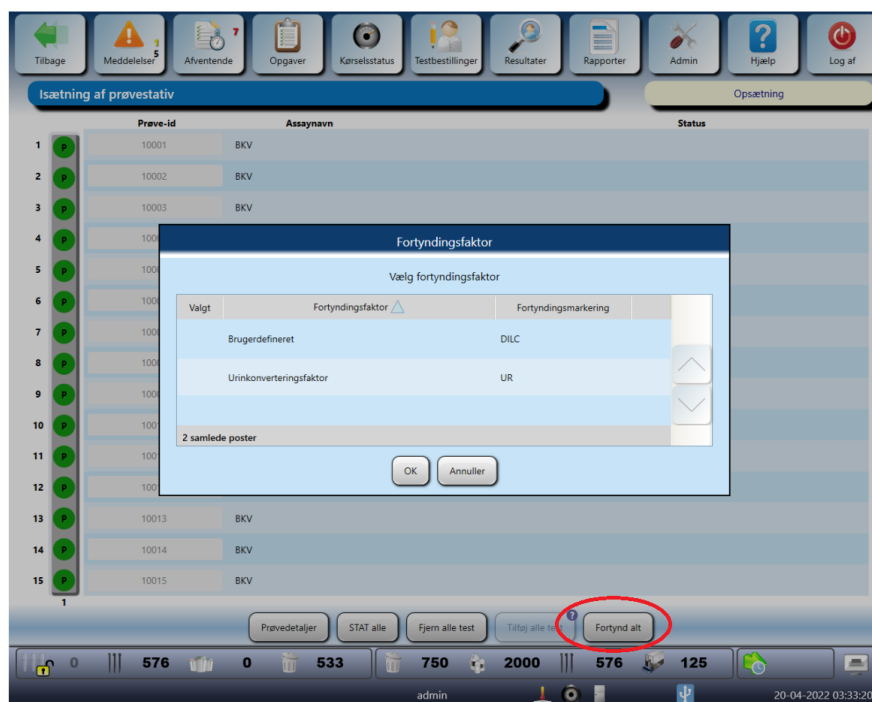
1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i *Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System*.
2. Isæt i prøvestativ.
3. Anvend urinkonverteringsfaktor til assaytestbestillinger til urinprøver.

Bemærkning: *urinkonverteringsfaktor kan anvendes til et helt stativ eller en enkelt testbestilling.*

Sådan anvender du urinkonverteringsfaktor til et helt stativ med urinprøver:

- a. Fra skærmen *Sample Rack Bay* (Prøvestativbås) dobbeltklikkes på det ønskede isatte stativ. Skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativ) vises for det valgte stativ.
- b. Vælg **Dilute All (Fortynd alle)**.

Vinduet *Dilution Factor* (Fortyndingsfaktor) vises (Figur 1).



Figur 1. Vinduet *Dilution Factor* (Fortyndingsfaktor) på skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativ) (eksempel)

- c. Vælg **Urine Conversion Factor (Urinkonverteringsfaktor)**.
- d. Vælg **OK**.

Et vindue *Set Dilution Factor for Rack* (Indstil Fortyndingsfaktor til stativ) vises.

- e. Vælg **Yes (Ja)** for at anvende markeringen for urinkonverteringsfaktor til hele stativet med urinprøver.

Sådan anvender du urinkonverteringsfaktoren til en enkel testbestilling (Figur 2):

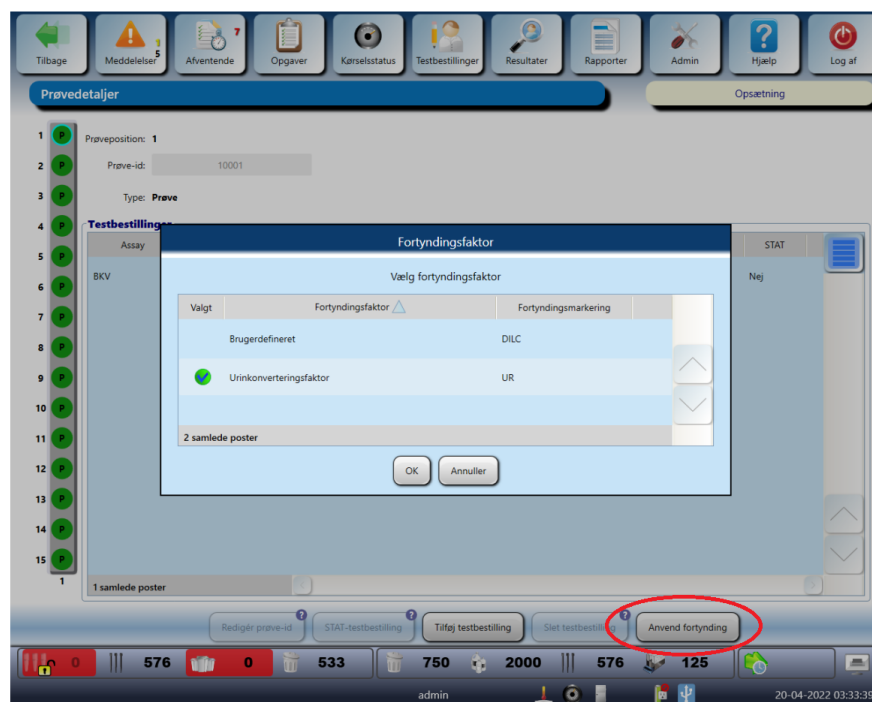
- a. Fra skærmen *Sample Rack Bay* (Prøvestativbås) dobbeltklikkes på det isatte stativ, der inkluderer prøven/prøverne af interesse.

Skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativ) vises for det valgte prøvestativ.

- b. Fra skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativer) dobbeltklikkes på den ønskede prøve.

Skærmen *Sample Details* (Prøveoplysninger) vises sammen med de aktuelle testbestillinger for den valgte prøve.

- c. Vælg den relevante testbestilling fra panelet *Test Orders* (Testbestillinger).

d. Vælg **Apply Dilution (Anvend fortynding)**.

Figur 2. Vinduet Dilution Factor (Fortyndingsfaktor) i skærmen Sample Details (Prøveoplysninger) (Eksempel)

- e. Vælg **Urine Conversion Factor (Urinkonverteringsfaktor)**.
 - f. Vælg **OK** for at anvende markeringen for Urinkonverteringsfaktor til alle valgte testbestillinger.
4. Hvis det er påkrævet, kan urinfaktoren fjernes fra testbestillinger før starten af behandling. Sådan sletter du urinkonverteringsfaktor fra et helt stativ:
- a. Fra skærmen *Sample Rack Bay* (Prøvestativbås) dobbeltklikkes på det ønskede isatte stativ.
Skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativ) vises for det valgte stativ.
 - b. Vælg **Dilute All (Fortynd alle)**.
 - c. Fra vinduet *Dilution Factor* (fortyndingsfaktor) skal du fravælge **Urine Conversion Factor (Urinkonverteringsfaktor)**.
 - d. Vælg **OK**.
Et vindue *Set Dilution Factor for Rack* (Indstil Fortyndingsfaktor til stativ) vises.
 - e. Vælg **Yes (Ja)** for at slette urinkonverteringsfaktoren fra et helt stativ.
Sådan sletter du urinkonverteringsfaktoren til assaytestbestillinger:
 - a. Fra skærmbilledet *Sample Rack Bay* (Prøvestativbås) dobbeltklikkes på det isatte stativ, der inkluderer prøven/prøverne af interesse.
Skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativ) åbnes for det valgte prøvestativ.
 - b. Fra skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativer) dobbeltklikkes på den ønskede prøve.

Skærmen Sample Details (Prøveoplysninger) vises sammen med de aktuelle testbestillinger for den valgte prøve.

- c. Vælg den relevante testbestilling fra panelet *Test Orders* (Testbestillinger).
- d. Vælg **Apply Dilution (Anvend fortynding)**.
- e. Fra vinduet *Dilution Factor* (fortyndingsfaktor) skal du fravælge **Urine Conversion Factor (Urinkonverteringsfaktor)**.
- f. Vælg **OK** for at slette Urinkonverteringsfaktoren fra testbestillingen.

Procedurebemærkninger

A. Kalibratorer og kontroller

1. qBKV kalibratorerne (5 reagensglas), EBV-BKV lav positiv kontrol (LPC), EBV-BKV høj positiv kontrol (HPC) og reagensglas til Transplantat negativ kontrol (NC III) kan isættes i enhver position i prøvestativet og i ethvert prøvebåsspor på Panther Fusion systemet. Kalibrator og kontrolpipettering begynder, når BKV prøver er isat på systemet. Pipettering af prøver begynder, når ét af de to følgende forhold er blevet opfyldt:
 - a. Kalibratorerne og kontrollerne behandles aktuelt af systemet.
 - b. Gyldige resultater for kalibratorerne og kontrollerne er blevet registreret på systemet.
2. Når kalibratoren og kontrolreagensglassene er blevet pipetteret og behandles til Panther Fusion BKV Quant assay, kan prøverne blive testet. Kalibreringsresultater er gyldige i 60 dage, og kontrolresultaterne er gyldige op til 30 dage (hyppighed konfigureres af en administrator) **med mindre**:
 - a. Kalibratorresultaterne er ugyldige.
 - b. Kontrolresultaterne er ugyldige.
 - c. Operatøren anmoder om at køre nye kontroller/kalibratorer i Panther Fusion systemsoftware.
3. Der kræves en kalibrering for hvert nye assaykassetlot, som isættes på Panther Fusion systemet, før det anvendes til prøvebehandling.
4. Hver kalibrator og hvert kontrolreagensglas kan anvendes én gang.

Kvalitetskontrol

Kalibrering af assayet

For at generere gyldige resultater skal en assaykalibrering være afsluttet. De fem positive kalibratorer køres i tripliket, hver gang et nyt assaykassetelot isættes på Panther Fusion systemet. Når assaykalibreringen er fastsat, er den gyldig op til 60 dage. Software på Panther Fusion systemet advarer operatøren, når der kræves kalibrering.

Under behandling verificerer Panther Fusion software automatisk gyldigheden af kalibreringskurven. Hvis kalibreringen ikke består validitetskontrollerne, gør Panther Fusion systemet automatisk alle berørte prøver ugyldige og kræver, at et nyt sæt assaykalibratorer køres, før, der pipetteres nogle ekstra prøver.

Som standard vil assayet behandle prøver som ufortyndet plasma. For at behandle urinprøver skal fortyndingen for urinkonverteringsfaktoren vælges fra instrumentets brugergrænseflade.

Negative og positive kontroller

For at danne gyldige resultater er det nødvendigt at teste et sæt assaykontroller. Ét replikat af NC III (transplantat negativ kontrol), LPC (lav positiv kontrol) og HPC (høj positiv kontrol) skal testes hver gang, der isættes et nyt lot assaykassetter på Panther Fusion systemet, eller når det aktuelle sæt gyldige kontroller for et aktivt kassetelot er udløbet.

Panther Fusion systemet er konfigureret til at kræve kørsel af assaykontroller med et administrator-specificeret interval på op til 30 dage. Software på Panther Fusion systemet advarer operatøren, når der kræves assaykontroller og starter ikke nye tests, før assaykontrollerne er isat og har startet behandlingen.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af assaykontrollerne automatisk af Panther Fusion systemet. For at skabe gyldige resultater skal assaykontrollerne godkendes af en række validitetskontroller, som udføres af Panther Fusion systemet.

Hvis assaykontrollerne godkendes af alle validitetskontroller, betragtes de som gyldige til det administratorspecificerede tidsinterval. Når tidsintervallet er gået, udløber assaykontrollerne af Panther Fusion systemet, og der kræves et nyt sæt assaykontroller, før der pipetteres nogle ekstra prøver.

Hvis nogen af assaykontrollerne ikke består validitetskontrollerne, gør Panther Fusion systemet automatisk de berørte prøver ugyldige, og der kræves et nyt sæt assaykontroller før pipettering af nogle ekstra prøver.

Intern kontrol

Der tilsættes en intern kontrol til hver prøve under ekstraktionsprocessen. Under behandlingen verificeres den interne kontrols godkendelseskriterier automatisk af Panther Fusion systemsoftware. Der kræves ikke detektion af den interne kontrol for prøver, som er positive for BKV. Den interne kontrol skal detekteres i alle prøver, som er negative for BKV. Prøver, som ikke opfylder det kriterium, rapporteres som ugyldige. Hver prøve med et ugyldigt resultat skal testes igen.

Panther Fusion systemsoftwaren er udviklet til at verificere processerne nøjagtigt, når procedurerne udføres efter anvisningerne på denne indlægsseddel og i *Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System*.

Tolkning af resultater

Panther Fusion systemet bestemmer automatisk koncentrationen af BKV DNA for prøver og kontroller ved at sammenligne resultaterne med en kalibreringskurve. BKV DNA koncentrationer rapporteres i IU/mL og $\log_{10}$ IU/mL. Fortolkningen af resultater er vist i Tabel 2 og Tabel 3.

Tabel 2: Fortolkning af plasmaresultat

Rapporterede BKV Quant Assay resultater		
IU/mL	$\log_{10}$ værdi	Fortolkning
Ikke detekteret	Ikke detekteret	BKV DNA ikke detekteret.
< 79 detekteret	< 1,90	BKV DNA detekteres, men på et niveau, der ligger under den nedre kvantiteringsgrænse (LLOQ).
79 til 1,0E09	1,90 til 9,00	BKV DNA koncentration ligger inden for det kvantitative område mellem LLOQ til ULOQ IU/mL.
> 1,0E09	> 9,00	BKV DNA koncentration er over den øvre kvantiteringsgrænse (ULOQ).
Ugyldige ^a	Ugyldige ^a	Der opstod en fejl under udarbejdelsen af resultatet. Prøven skal testes igen.

^a Ugyldige resultater vises med blå skrift.

Tabel 3: Fortolkning af urinresultat

Rapporterede BKV Quant Assay resultater		
IU/mL	$\log_{10}$ værdi	Fortolkning
Ikke detekteret	Ikke detekteret	BKV DNA ikke detekteret.
< 162 detekteret	< 2,21	BKV DNA detekteres, men på et niveau, der ligger under den nedre kvantiteringsgrænse (LLOQ).
162 til 2,0E09	2,21 til 9,30	BKV DNA koncentration ligger inden for det kvantitative område mellem LLOQ til ULOQ IU/mL.
> 2,0E09	> 9,30	BKV DNA koncentration er over den øvre kvantiteringsgrænse (ULOQ).
Ugyldige ^a	Ugyldige ^a	Der opstod en fejl under udarbejdelsen af resultatet. Prøven skal testes igen.

^a Ugyldige resultater vises med blå skrift.

Begrænsninger

- A. Brug af dette assay er begrænset til personale, som er oplært i denne procedure. Hvis disse anvisninger ikke følges, kan det føre til fejlagtige resultater.
- B. Pålidelige resultater er afhængige af tilstrækkelig prøvetagning og korrekt transport, opbevaring og behandling af prøver.
- C. Undgå kontaminering ved at overholde god laboratoriepraksis og de procedurer, der er beskrevet på denne indlægsseddel.
- D. Selv om det er sjældent, kan mutationer i de højt konserverede regioner af virusgenomet, der er dækket af primere og/eller prøber i Panther Fusion BKV Quant assayet, resultere i under kvantitering af eller manglende evne til at detektere virusset.
- E. Negative resultater forhindrer ikke BKV infektioner og bør ikke anvendes som eneste grundlag for behandling eller andre behandlingsbeslutninger.
- F. Et positivt resultat angiver detektionen af nukleinsyre fra det relevante virus. Nukleinsyre kan vedvare selv efter, at virusset ikke længere er levedygtigt.

Præstation

Detektionsgrænse ved brug af 1. internationale WHO-standard

Detektionsgrænsen (LoD) for dette assay defineres som koncentrationen af BKV DNA, der detekteres med 95% eller større sandsynlighed ifølge CLSI EP17-A2.⁷

Detektionsgrænse ved brug af WHO-standarder i plasma

LoD blev bestemt ved at teste paneler af 1. internationale WHO-standard (NIBSC-kode 14/212) for BKV fortyndet i BKV-negativt humant plasma. Tyve (20) replikater af hver fortynding blev testet med hvert af tre reagenslot til i alt 60 replikater pr. fortynding. Der blev udført probit-analyser for at generere de forventede detektionsgrænser. LoD værdierne, som vises i Tabel 4, er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse. LoD for Panther Fusion BKV Quant assayet ved brug af 1. internationale WHO-standard er 43,1 IU/mL for plasma.

Tabel 4: Detektionsgrænse ved brug af 1. internationale WHO-standard for BKV

Forventet detektionsgrænse	Koncentration (IU/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

Detektionsgrænse ved brug af WHO-standarder i urin

LoD blev bestemt ved at teste paneler af 1. internationale WHO-standard for BKV fortyndet i BKV-negativ human urin. Tyve (20) replikater af hver fortynding blev testet med hvert af tre reagenslot til i alt 60 replikater pr. fortynding. Der blev udført probit-analyser for at generere de forventede detektionsgrænser. LoD værdierne, som vises i Tabel 5, er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse. LoD for Panther Fusion BKV Quant assayet ved brug af 1. internationale WHO-standard er 143,6 IU/mL for urin.

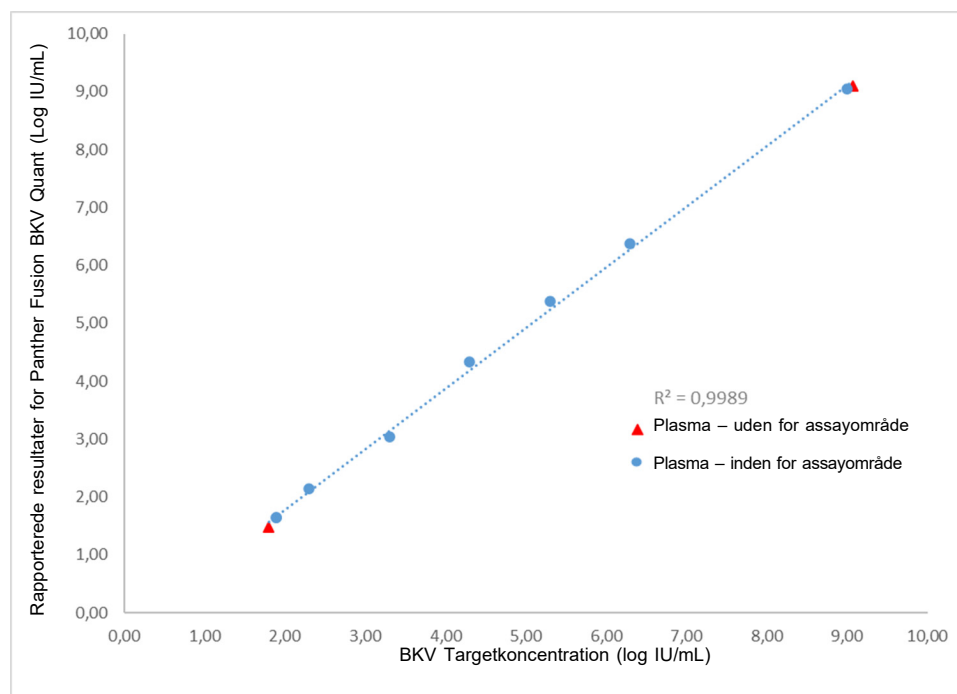
Tabel 5: Detektionsgrænse for urin ved brug af 1. internationale WHO-standard for BKV

Forventet detektionsgrænse	Koncentration (IU/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

Lineært område

Lineært område i plasma

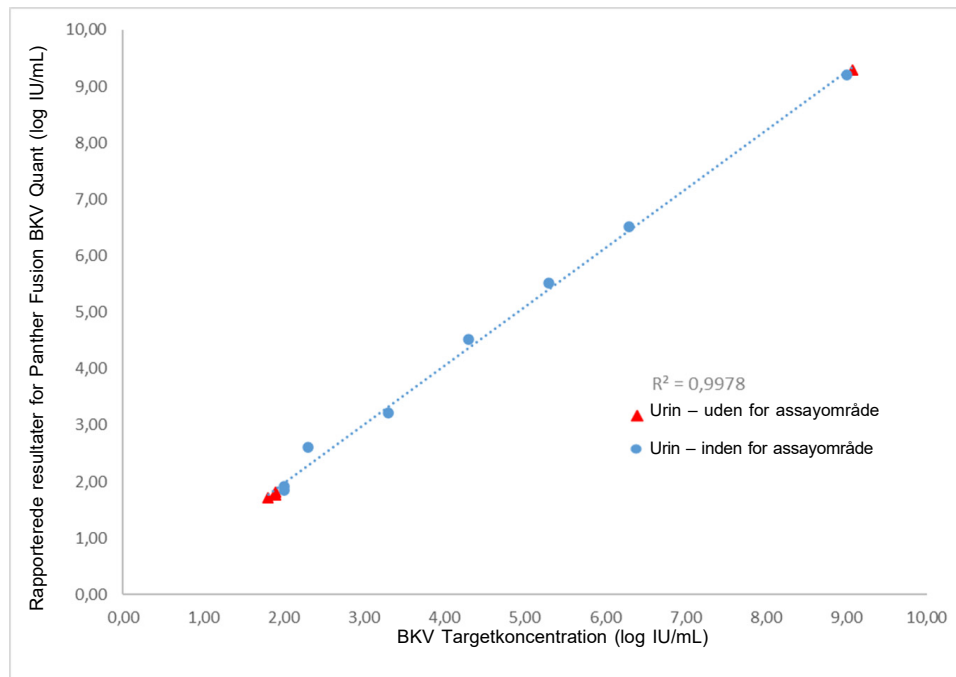
Det lineære område blev fastlagt ved testning af paneler, bestående af BKV fortyndet i BKV-negativt humant plasma ifølge CLSI EP06-A.⁸ Paneler varierede i koncentration fra 1,80 log IU/mL til 9,08 log IU/mL. Panther Fusion BKV Quant assayet påviste linearitet på tværs af det testede område. Assayets øvre kvantiteringsgrænse (ULoQ) er 9,00 log IU/mL, som vist i Figur 3.



Figur 3. Linearitet i plasma

Lineært område i urin

Det lineære område blev fastlagt ved testning af paneler, bestående af BKV fortyndet i BKV-negativ human urin ifølge CLSI EP06-A.⁸ Paneler varierede i koncentration fra 2,11 log IU/mL til 9,38 log IU/mL. Panther Fusion BKV Quant assayet påviste linearitet på tværs af det testede område. Assayets øvre kvantiteringsgrænse (ULoQ) er 9,30 log IU/mL, som vist i Figur 4.



Figur 4. Linearitet i urin

Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af 1. internationale WHO-standard

Den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ) defineres som den laveste koncentration ved hvilken BKV kvantiteres pålideligt i henhold til CLSI EP17-A2.⁷ Total fejl blev vurderet ved brug af Westgard-modellen: Total fejl (TE) = |bias| + 2 SD. For at sikre præcision og nøjagtighed af målingerne blev total af Panther Fusion BKV Quant assayet indstillet til 1,2 log IU/mL med en bias til sandheden og en SD, som skal være henholdsvis $\leq 0,5$ log IU/mL og $\leq 0,35$ log IU/mL.

Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af WHO-standard i plasma

LLoQ blev bestemt ved at teste paneler af 1. internationale WHO-standard (NIBSC-kode 14/212) for BKV fortyndet i BKV-negativt humant plasma. Tyve (20) replikater af hver fortynding blev testet med hvert af tre reagenslot til i alt 60 replikater pr. fortynding. LLoQ resultaterne for de tre reagenslot vises i Tabel 6. LLoQ genereret med WHO's 1. internationale standard for BKV i plasma er 79 IU/mL (1,90 log IU/mL).

Tabel 6: Bestemmelse af LLoQ ved brug af 1. internationale WHO-standard for BKV fortyndet i plasma

Reagenslot	N	N detekteret	Targetkoncentration (log IU/mL)	BKV Quant		SD (log IU/mL)	Bias (log IU/mL)	Beregnet TE (log IU/mL)
				Assay (log IU/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 = standardafvigelse $\leq 0,35$ (log IU/mL).|Bias| = bias til rigtigheden $\leq 0,5$ (log IU/mL).

Fortyndingen, som svarer til LLoQ koncentrationen og testet på hvert reagenslot er markeret med gråt.

Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af WHO-standard i urin

LLoQ blev bestemt ved at teste paneler af 1. internationale WHO-standard (NIBSC-kode 14/212) for BKV fortyndet i BKV-negativ human urin. Tyve (20) replikater af hver fortynding blev testet med hvert af tre reagenslot til i alt 60 replikater pr. fortynding. LLoQ resultaterne for de tre reagenslot vises i Tabel 7. LLoQ genereret med 1. internationale WHO-standard for BKV i urin er 162 IU/mL (2,21 log IU/mL).

Tabel 7: Bestemmelse af LLoQ ved brug af 1. internationale WHO-standard for BKV fortyndet i urin

Reagenslot	N	N detekteret	Targetkoncentration (log IU/mL)	BKV Quant		Bias (log IU/mL)	Beregnet TE (log IU/mL)
				Assay (log IU/mL)	SD (log IU/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 = standardafvigelse ≤ 0,35 (log IU/mL).

|Bias| = bias til rigtigheden ≤ 0,5 (log IU/mL).

Fortyndingen, som svarer til LLoQ koncentrationen og testet på hvert reagenslot er markeret med gråt.

Bekræftelse af den nedre kvantiteringsgrænse på tværs af BKV genotyper

Nedre kvantiteringsgrænse på tværs af genotyper i plasma

LLoQ fastsat ved brug af WHO-standard blev vurderet ved at teste BKV genotyper I (1b-2) og IV tilsat ved 3X LLoQ i BKV-negativt humant plasma. Tre replikater af hvert panelmedlem blev testet med ét reagenslot. Resultaterne vises i Tabel 8.

Tabel 8: Bekræftelse af LLoQ på tværs af genotyper i plasma

Isolat (Genotype)	N	N detekteret	Targetkoncentration (log IU/mL)	BKV Quant		Bias (log IU/mL)
				Assay (log IU/mL)	SD (log IU/mL)	
Genotype I (1b-2)	3	3	2,37	2,59	0,08	0,2
Genotype IV	3	3	2,37	2,25	0,05	0,1

SD = standardafvigelse.

Nedre kvantiteringsgrænse på tværs af genotyper i urin

LLOQ fastsat ved brug af WHO-standarden blev vurderet ved at teste BKV genotyper I (1b-2) og IV i BKV-negativ human urin. Tre replikater af hvert panelmedlem blev testet med ét reagenslot. Resultaterne vises i Tabel 9.

Tabel 9: Bekræftelse af LLOQ på tværs af genotyper i urin

Isolat (Genotype)	N	N detekteret	Targetkoncentration (log IU/mL)	BKV Quant Assay (log IU/mL)	SD (log IU/mL)	Bias (log IU/mL)
Genotype I (1b-2)	3	3	2,69	2,43	0,27	0,0
Genotype IV	3	3	2,69	2,57	0,16	0,2

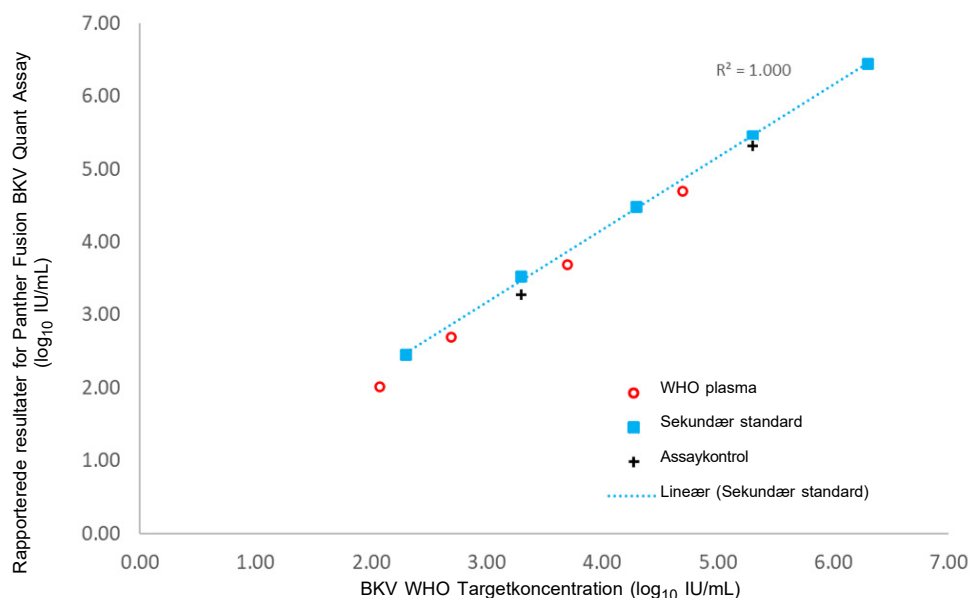
SD = standardafvigelse.

Sporbarhed til 1. internationale WHO-standard

En række sekundære standarder med kendte koncentrationer blev brugt gennem hele produktudviklingen og produktfremstillingen for at fastsætte sporbarheden til WHO-standarden. BKV 1. WHO-standard blev fortyndet og testet sammen med de sekundære standarder såvel som assaykontroller og kalibratorer, der blev anvendt i Panther Fusion BKV Quant assayet til at vurdere sporbarheden iht. CLSI EP32-R.⁹ De sekundære standarder varierede i koncentration fra 2,30 til 6,30 log₁₀ IU/mL.

Sporbarhed til WHO-standarden ved brug af plasma

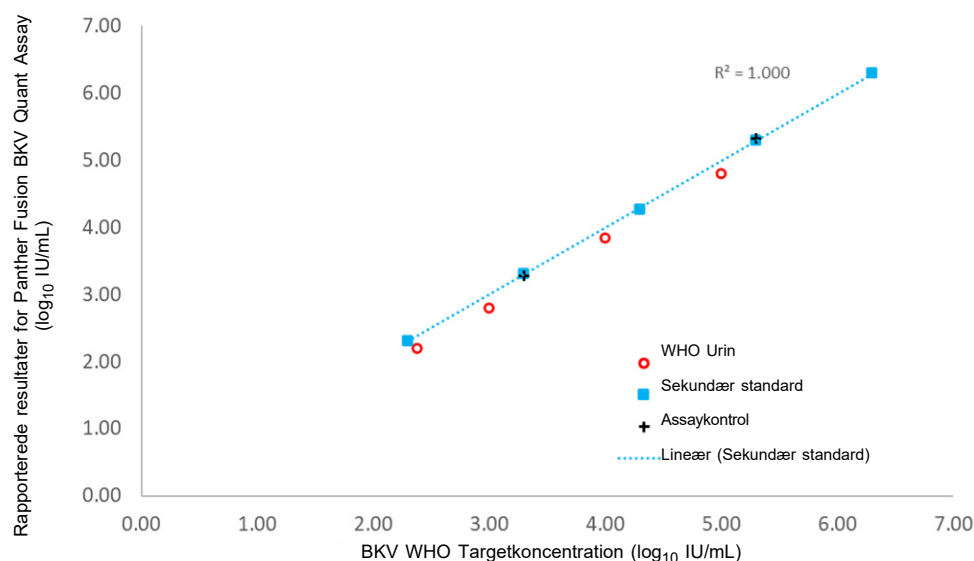
De koncentrationer, der blev testet til BKV 1. WHO-standard, var mellem 2,07 og 4,70 log IU/mL. WHO-plasmapaneller, sekundære standarder, assaykontroller og assaykalibratorer blev genindvundet som forventet på tværs af assayets lineære område, som det kan ses fra Figur 5.



Figur 5. Sporbarhed mellem BKV 1. WHO-standards targetkoncentrationer og rapporterede koncentrationer i Panther Fusion BKV Quant Assay (WHO-standard fortyndet i plasma)

Sporbarhed til WHO-standarden ved brug af urin

De koncentrationer, der blev testet til BKV 1. WHO-standard i urin var mellem 2,38 og 5,00 log₁₀ IU/mL. WHO urinmapanelerne, sekundære standarder, assaykontroller og assaykalibratorer blev genindvundet som forventet på tværs af assayets lineære område, som det kan ses fra Figur 6.



Figur 6. Sporbarhed mellem BKV 1. WHO-standards targetkoncentrationer og rapporterede koncentrationer i Panther Fusion BKV Quant Assay (WHO-standard fortyndet i urin)

Inden for laboratoriepræcision

Urin

Til at vurdere inden for laboratoriepræcision blev der fremstillet et negativt panel og et panel med 3 medlemmer ved at fortynde BKV DNA i BKV negativ urin. De positive og negative paneler blev testet af 2 operatører ved brug af 3 reagenslot på 3 Panther Fusion systemer over 6 ikke på hinanden følgende testdage. Hver operatør udførte 2 kørsler pr. dag, og hvert panelmedlem blev testet i triplicat i hver kørsel. Undersøgelsen blev tilrettelagt og analyseret iht. anbefalingerne i CLSI EP-05-A3.¹⁰

Tabel 10 viser reproducerbarheden af assayresultaterne (i log IU/mL) for det positive panel mellem instrumenter, operatører, kassetlot, kørsler, dage, inden for kørsler og i alt. Samlet variabilitet var primært pga. inden for kørsel-variabilitet (dvs. tilfældig fejl). Alle det negative panels replikater var negative.

Tabel 10: Reproducerbarhed af Panther Fusion BKV Quant Assay i urin

N	Middelkoncentration (log IU/mL)	Mellem Lot	Mellem-instrument	Mellem operatør	Mellem dage	Mellem kørsel	Inden for en kørsel	I alt
		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 = standardafvigelse.

Potentielt interfererende stoffer

Panther Fusion BKV Quant assayets tilbøjelighed til interferens med høje niveauer af endogene stoffer, antikoagulanter og almindeligt foreskrevne lægemidler til patienter med transplantat blev vurderet i BKV-negative matricer ved forekomst eller fravær af 2,37 log IU/mL og 2,69 log IU/mL af BKV i henholdsvis plasma og urin. Testkoncentrationerne for hver af de interfererende stoffer blev valgt på basis af tilgængelige litteraturhenvisninger og vejledning leveret af CLSI EP07¹¹ og EP37.¹²

Der blev ikke iagttaget nogen interferens i nøjagtigheden af assayet i plasma- eller i urinprøver ved forekomst af potentielt interfererende stoffer, som er angivet i Tabel 11 og Tabel 12.

Tabel 11: Plasma endogene stoffer

Potentielt interfererende stof	Antal replikater	Testet koncentration
Albumin	3	375 mg/dL
Konjugeret bilirubin	3	40 mg/dL
Hæmoglobin	3	1000 mg/dL
Humant genomisk DNA	3	0,2 mg/dL
Triglycerider	3	3,45 mg/dL
Ukonjugeret bilirubin	3	0,40 mg/dL

Tabel 12: Urin endogene stoffer

Potentielt interfererende stof	Antal replikater	Testet koncentration
Albumin	3	375 mg/dL
Konjugeret bilirubin	3	40 mg/dL
Estradiol	3	8E-05 mg/dL
Glukose	3	220 mg/dL
Mucin	3	6 mg/dL
Mononukleære celler i perifert blod	3	1E+06 celler/mL
pH, sur (HCl)	3	2 mM
pH, alkalisk (NaOH)	3	0,2 mM
Sæd	3	5%
Helblod	3	2%

Der blev ikke iagttaget nogen interferens i nøjagtigheden af kvantiteringen ved forekomst af de eksogene stoffer, som er angivet i Tabel 13 og Tabel 14.

Tabel 13: Eksogene stoffer for plasma

Potentielt interfererende stof	Antal replikater	Testet koncentration
Acyclovir	3	6,6 mg/dL
Azathioprin	3	0,258 mg/dL
Cefotetan	3	71,1 mg/dL
Cidofovir	3	12,4 mg/dL
Kaliumclavulanat	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
Mycophenolat mofetil	3	18,1 mg/dL
Mycophenolatmofetil relateret forbindelse 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 dinatrium	3	151 mg/dL
Trimethoprim	3	4,2 mg/dL
Valganciclovir	3	4,83 mg/dL
Vancomycin	3	12 mg/dL

Tabel 14: Eksogene stoffer for urin

Potentielt interfererende stof	Antal replikater	Testet koncentration
Paracetamol	3	3 mg/dL
Acetylsalicylsyre	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
Phenazopyridin hydrochlorid	3	79,5 ng/dL
Propylenglycol	3	135 mg/dL
Talkum	3	5 mg/dL

Analytisk specificitet

Potentiel krydsreaktivitet til de patogener, som er angivet i Tabel 15, blev vurderet i BKV-negative matricer ved forekomst eller fravær af 2,37 log IU/mL og 2,69 log IU/mL af BKV i henholdsvis plasma og urin. Patogener blev testet ved den højeste tilgængelige koncentration. Der blev ikke iagttaget nogen krydsreaktivitet eller interferens i nøjagtigheden af kvantiteringen.

Tabel 15: Patogener testet for analytisk specificitet

Mikroorganisme/Patogen	Koncentration	Mikroorganisme/Patogen	Koncentration
ADV-5	1,00E+05 TCID ₅₀ /mL	Humant herpes virus 7	1,00E+03 TCID ₅₀ /mL
<i>Aspergillus niger</i>	1,00E+06 CFU/mL	Humant herpes virus 8	1,00E+05 TCID ₅₀ /mL
<i>Bacillus cereus</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06 cp/mL
<i>Bacillus subtilis</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Candida glabrata</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Candida parapsilosis</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium avium</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Candida tropicalis</i>	1,00E+06 CFU/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 CFU/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1,00E+06 CFU/mL	Humant Parvovirus B19	1,00E+05 IU/mL
CMV	1,00E+05 cp/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06 CFU/mL
EBV	1,00E+05 cp/mL	<i>Salmonella enterica</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Enterococcus faecium</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,00E+06 CFU/mL

Tabel 15: Patogener testet for analytisk specificitet (fortsat)

Mikroorganisme/Patogen	Koncentration	Mikroorganisme/Patogen	Koncentration
HBV	1,00E+05 IU/mL	<i>Streptococcus bovis</i>	1,00E+06 CFU/mL
HCV	1,00E+04 IU/mL	<i>Streptococcus oralis</i>	1,00E+06 CFU/mL
HIV-1	1,00E+05 IU/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/mL
HIV-2	1,00E+04 IU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 CFU/mL
HSV-1	1,00E+06 TCID ₅₀ /mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,00E+05 Trophozoitter/mL
HSV-2	1,00E+04 TCID ₅₀ /mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1,00E+06 cp/mL
HPV-16 (SiHa celler inficeret)	1,00E+05 celler/mL	Varicella zoster-virus	1,00E+05 cp/mL
Humant herpes virus 6	1,00E+05 cp/mL	—	—

CCU/mL = koloni-ændrende enheder pr. mL.

CFU/mL = koloni-dannende enheder pr. mL.

cp/mL = copies pr. mL.

IFU/mL = inklusionsdannende enheder pr. mL.

IU/mL = Internationale enheder pr. mL.

TCID₅₀/mL = vævskultur infektiøse dosisenheder pr. mL.

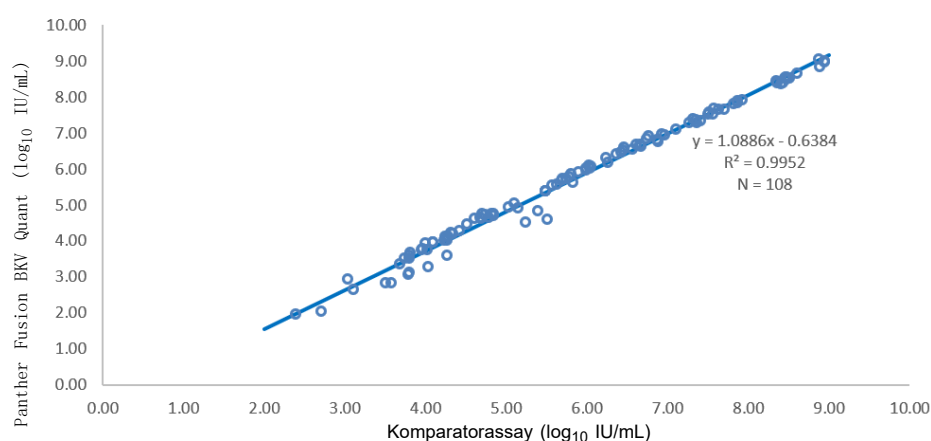
Korrelation mellem metoder

Denne undersøgelse blev tilrettelagt i overensstemmelse med CLSI EP09c.¹³

Præstationen af Panther Fusion BKV Quant assayet blev vurderet mod et komparatorassay ved at teste henholdsvis udtagne prøver og kunstige prøver, som dækker hele det lineære område.

Korrelation mellem plasmametoder

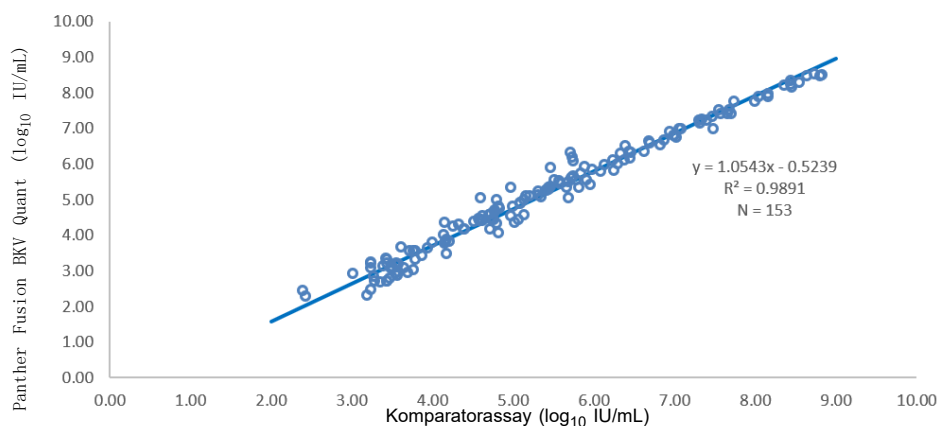
I alt 108 prøver inden for det lineære område, der er fælles for begge analyser, blev brugt til Deming-regressionen og viste en korrelationskoefficient på 99,52 % i plasma som vist i Figur 7.



Figur 7. Korrelation mellem BKV virusmængde i Panther Fusion BKV Quant Assayet og et komparatorassay ved testning af plasmaprøver

Urinmetodekorrelation

I alt 153 prøver inden for det lineære område, der er fælles for begge analyser, blev brugt til Deming-regressionen og viste en korrelation på 98,91 % i urin som vist i Figur 8.



Figur 8. Korrelation mellem BKV virusmængde i Panther Fusion BKV Quant Assayet og komparatorassayet ved testning af urinprøver

Der blev påvist høj detektionsoverensstemmelse inden for det fælles kvantificeringsområde mellem Panther Fusion BKV Quant assay og komparatorassayet for EDTA-plasma og for urinprøver, som vist i Tabel 16.

Tabel 16: Klinisk overensstemmelse for plasma- og urinprøver

	Plasmaprøver	Urinprøver
%PPA	98,3 (CI95% - 94,1 til 99,5)	100,0 (CI95% - 97,7 til 100,0)
%NPA	100,0 (CI95% - 97,9 til 100,0)	100,0 (CI95% - 97,3 til 100,0)

Overførsel/krydskontaminering

Overførsel blev vurderet med høj-titer BKV-tilsat STM prøver ($1,00 \times 10^9$ IU/mL) fordelt mellem BKV-negative prøver i et skakbrætmønster. Testningen blev udført over 5 kørsler. Den samlede overførselsrate var 0,00% (0/150).

Bibliografi

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 Web site <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (April 4, 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.

Kontaktoplysninger og revisionshistorik



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



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

Australsk sponsor:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park, NSW 2113

For e-mailadresse og telefonnummer til landespecifik Teknisk support og Kundeservice henvises til www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther og Panther Fusion og tilhørende logoer er varemærker og/eller registrerede varemærker, der er ejet af Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaber i USA og/eller andre lande.

Quasar er et registreret varemærke og er licenseret Biosearch Technologies, Inc.

Alle andre varemærker, der måtte findes i denne indlægsseddel, tilhører deres respektive ejere.

Dette produkt kan være omfattet af et eller flere amerikanske patenter, der findes på www.hologic.com/patents.

©2022-2025 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

AW-26020-1901 Rev. 003
2025-02

Revisionshistorik	Dato	Beskrivelse
AW-26020-001 Rev. 002	December 2023	Afsnit om indsamling, behandling og opbevaring af prøver opdateret
AW-26020-001 Rev.003	Februar 2025	- Afsnittet om prøvetagning, -behandling og -opbevaring er opdateret. - Opdatering af påkrævede materialer. - Oplysninger om farer er opdateret til de seneste sikkerhedsdatablade. - Afsnittet om ydeevne er opdateret. - Tabellerne 11, 12, 13 og 14 er opdateret. - Tabel 16 tilføjet. - Afsnittet om metodekorrelation er opdateret. - Udført rutinemæssige administrative redigeringer.