BKV Quant-assay (Panther Fusion® System)

Til *in vitro*-diagnostisk bruk

Kun for USA-eksport

INNHOLD

Generell informasjon 2
Tiltenkt bruk 2
Oppsummering og forklaring av testen 2
Prosedyrens prinsipper 2
Advarsler og forholdsregler 4
Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser 6
Prøvetaking, prosessering og oppbevaring 7
Prøver ombord i Panther Fusion-systemet 8
Prøvetransport 9
Panther Fusion-system 10
Reagenser og materialer som leveres ved Panther Fusion BKV Quant-assayet . . . 10
Nødvendige materialer som er tilgjengelige separat 11
Valgfri materialer 12
Panther Fusion-system testprosedyre 12
Prosedyremerknader 17
Kvalitetskontroll 18
Assaykalibrering 18
Negative og positive kontroller 18
Intern kontroll 18
Tolkning av resultater 19
Begrensninger 20
Ytelse 21
Deteksjonsgrense ved bruk av WHOs 1. internasjonale standard 21
Lineært område 22
Nedre kvantifiseringsgrense med WHOs 1. internasjonale standard 23
Bekreftelse av den nedre kvantifiseringsgrensen på tvers av BKV-genotyper 25
Sporbarhet til WHOs 1. Internasjonal standard 26
Innen laboratoriepresisjon 27
Potensielt interfererende stoffer 28
Analytisk spesifisitet 30
Metodekorrelasjon 31
Overførings-/krysskontaminasjon 32
Bibliografi 33
Kontaktinformasjon og revisjonshistorikk 34

Generell informasjon

Tiltenkt bruk

Panther Fusion® BKV Quant-assay er en helautomatisert sanntids PCR (RT-PCR) *in vitro* nukleinsyre amplikasjonstest til kvantifisering av humant BK-virus (BKV) DNA i humane plasma- og urinprøver.

Panther Fusion BKV Quant-assay er tiltenkt brukt som en hjelp ved diagnostiseringen og håndtering av pasienter med fastorgantransplant og pasienter med hematopoetisk stamcelletransplantat.

Panther Fusion BKV Quant-assay er ikke beregnet brukt som screeningstest for nærvær av BKV i plasma eller urin. Dette assayet er beregnet brukt på Panther Fusion-systemet.

Oppsummering og forklaring av testen

BKV er et svært prevalent lite ikke-innkapslet virus med et lukket sirkulært dobbelttrådet DNA-genom. BKV er et humant polyomavirus som tilhører familien Papovaviridae.

Primær eksponering for BKV skjer i barndommen som fører til at 80 til 90 % av voksne har utviklet antistoffer mot BKV. Flertallet av primære BKV-infeksjoner er asymptomatiske eller minimal symptomatisk. Etter primær infeksjon mener man at viruset blir værende latent i urinveiene uten at sykdom manifesteres hos immunkompetente personer.[1]

Virusreaktivering skjer hos immunkompromerte personer og skjer ofte hos pasienter med nyretransplantat og pasienter med hematopoietisk stamcelletransplantat (HSCT). Hos pasienter med nyretransplantat er BKV-reaktivering forbundet med nefropati (BKVN) og urinrestenose. BKVN skjer hos omtrent 5 % av nyretransplantatpasienter innen ett år etter transplantasjonen. BKV-reaktivering er viktig hos HSCT-mottakere med sen debut av hemoragisk cystitt som skjer hos 6 % til 29 % av pasientene innen 2 måneder etter transplantasjon.[2]

Kvantitativ nukleinsyre-amplifikasjonstesting fra plasma- eller urinprøver er viktige laboratoriemarkører ved diagnostisering og overvåking av BKV-infeksjon hos transplantatmottakere. Nylige retningslinjer anbefaler at pasienter med nyretransplantat bør screenes regelmessig for BKV DNA-nivåer i plasma etter transplantatet for å identifisere pasienter som vurderes for forebyggende behandling mot nefropati. Faren for å utvikle BKVN øker med høye nivåer av BKV DNA som observeres i plasma eller urin, men kan skjer ved lavere BKV-nivåer.[3,4]

Prosedyrens prinsipper

Panther Fusion-systemet fullautomatiserer prøvebehandling, inkludert cellelyse, nukleinsyreinnfanging, amplifikasjon og deteksjon for Panther Fusion BKV Quant-assay. Panther Fusion BKV Quant-assayet har det svært konserverte VP2-genet som mål for å sikre en nøyaktig kvantifisering av BKV DNA. Assayet er standardisert iht. WHOs 1. Internasjonale standard (NIBSC-kode: 14/212) for BKV.[5]

Prøvebehandling og nukleinsyreekstraksjon: En intern kontroll (IC-B) legges automatisk til hver prøve via Panther Fusion innfangingsreagens-B (wFCR-B) som brukes for å overvåke interferens under prøveprosessering, amplifisering og deteksjon forårsaket av reagensfeil eller hemmende stoffer. Prøver tilsettes først Panther Fusion innfangingsreagens-B (FCR-B) og Panther Fusion forbedrerreagens-B (FER-B) for å frigjøre nukleinsyre for hybridisering til

magnetiske partikler. Deretter skilles de innfangede partiklene fra restprøvematrise i et magnetisk felt ved en rekke vasketrinn med mildt vaskemiddel. Den ekstraherte nukleinsyren elueres deretter fra de magnetiske partiklene med en reagens med lav ionestyrke (Panther Fusion-elueringsbuffer).

Merknad: *Panther Fusion-systemet legger IC-B til FCR-B. Etter at IC-B er lagt til FCR-B, kalles den wFCR-B.*

PCR-amplifikasjon og fluorescensdeteksjon: Lyofilisert enkeltdose-PCR-hovedblanding rekonstitueres med Panther Fusion rekonstitusjonsbuffer I og deretter kombineres med den eluerte nukleinsyren i et reaksjonsrør. Panther Fusion oljereagens tilsettes for å hindre fordampning under PCR-reaksjonen. PCR-basert målamplifikasjon skjer deretter med målspesifikke forover- og revers-primere, noe som genererer et fluorescenssignal.

Panther Fusion-systemet gir en Ct-verdi som er proporsjonal med BKV-konsentrasjonen i testprøvene. Konsentrasjonen i en prøve bestemmes av Panther Fusion-systemets programvare som bruker BKV Ct-verdier for hver reaksjon og sammenligner dem med kalibreringskurven. BKV-resultater rapporteres i IU/mL og $\log_{10}$ IU/mL for både plasma- og urinprøver. Når urinkonverteringsfaktoren velges på Panther Fusion-programvaren, brukes automatisk en fortynningsfaktor på 2 på BKV-virusmengderesultater for å ta hensyn til fortynningstrinnet under prosessering av en urinprøve.

Det finnes et sammendrag av målene og kanalene som brukes til deteksjon på Panther Fusion-systemet, i tabellen nedenfor:

Mål	Målgen	Instrumentkanal
BKV	VP2	ROX
Intern kontroll	Ikke relevant	Quasar® 705

Advarsler og forholdsregler

A. Til *in vitro*-diagnostisk bruk.

B. Til profesjonell bruk.

C. Les hele pakningsvedlegget og *Operatørhåndbok for Panther®- / Panther Fusion-system* før du utfører dette assayet.

D. Panther Fusion forbedrerreagens-B (FER-B) er etsende, farlig hvis den svelges og forårsaker alvorlige hudforbrenninger og øyeskader.

E. Bare personell med tilstrekkelig opplæring i bruken av dette assayet og håndtering av potensielt infeksiøst materiale, skal utføre disse prosedyrene. Hvis det forekommer søl, skal det desinfiseres i samsvar med egnede prosedyrer for stedet.

F. Prøvene kan være infeksiøse. Bruk globale forholdsregler når dette assayet utføres. Riktig håndtering av avhendingsmetoder skal bestemmes av laboratoriedirektøren. Kun personell med tilstrekkelig opplæring i håndtering av potensielt infeksiøst materiale har lov til å utføre denne diagnostiske prosedyren.[6]

G. Bruk rutinemessige laboratorieforholdsregler. Ikke pipetter med munnen. Ikke spis, drikk eller røyk i anviste arbeidsområder. Bruk engangshansker uten pulver, øyevern og laboratoriefrakker når prøver og reagenser håndteres. Vask hendene grundig når du har håndtert prøver og reagenser.

H. Bruk bare medfølgende eller spesifiserte engangslaboratorievarer.

I. Arbeidsflater, pipetter og annet utstyr skal jevnlig dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning.

J. Kast alle materialene som har vært i kontakt med prøvene og reagensene, iht. aktuelle nasjonale, internasjonale og regionale forskrifter.

K. Sørg for tilfredsstillende oppbevaringsforhold under prøveforsendelsen for å sikre prøvens kvalitet. Prøvestabiliteten under prøveforsendelsene, annet enn anbefalt, har ikke blitt evaluert.

L. Unngå krysskontaminasjon under håndteringen av prøven. Vær spesielt nøye for å unngå kontaminasjon ved spredning av aerosoler når prøvene løsnes eller hettene tas av. Prøver kan inneholde ekstremt høy konsentrasjon av virus eller andre organismer. Sørg for at prøvebeholderne ikke kommer i kontakt med hverandre, og kast brukte materialer uten å føre dem over åpne beholdere. Bytt hansker hvis de kommer i kontakt med prøvene.

M. Ikke bruk reagensene, kalibratorene eller kontrollene etter utløpsdatoen. Ikke bruk Aptima® urinprøve-transportrøret etter utløpsdatoen.

N. Oppbevar assaykomponenter under anbefalte oppbevaringsforhold. Se *Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser* og *Panther Fusion-system testprosedyre* for å finne mer informasjon.

O. Ikke kombiner noen assayreagenser eller væsker. Ikke fyll reagenser eller væsker til topps. Panther Fusion-systemet bekrefter reagensnivåene.

P. Unngå mikrobiell og nukleasekontaminasjon av reagenser.

Q. Kvalitetskontrollkrav må utføres i samsvar med lokale og/eller statlige forskrifter eller akkrediteringskrav og standard kvalitetskontrollprosedyrer til det enkelte laboratoriet.

R. Ikke bruk assaykassetten hvis oppbevaringsposen ikke lenger er forseglet eller hvis kassettfolien ikke er intakt. Kontakt teknisk støtte hos Hologic hvis noe av dette skulle skje.

S. Ikke bruk væskepakkene hvis folieforseglingen ikke er på plass. Kontakt tekniske støtte hos Hologic hvis dette skjer.

T. Vær forsiktig når assaykassettene håndteres. Ikke slipp eller snu assaykassettene. Unngå langvarig eksponering for omgivelseslys.

U. Noen reagenser i dette settet er merket med fareinformasjon.

Merknad: *Farekommunikasjon avspeiler klassifikasjonene i EUs sikkerhetsdatablad (SDS). For farekommunikasjonsinformasjon spesifikk for din region, henvises til regionens spesifikke SDS på Sikkerhetsdatabiblioteket på www.hologicsds.com. Se symbolforklaringen på www.hologic.com/package-inserts for å finne ytterligere informasjon om symbolene.*

EU fareinformasjon	
—	**Panther Fusion BKV Quant-assaykassett** ***ALFA-SYKLODEKSTRIN 20–25 %*** H412 – Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann. P273 – Unngå utslipp til miljøet. P501 – Innhold/beholder leveres til et godkjent avfallsanlegg.
—	**Panther Fusion innfangingsreagens-B (FCR-B)** ***HEPES 15–20 %*** ***LAURYLSULFITLITIUMSALT 10–15 %*** ***RAVSYRE 1–5 %*** ***LITIUMHYDROKSID, MONOHYDRAT 1–5 %*** H412 – Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann. P273 – Unngå utslipp til miljøet. P501 – Innhold/beholder leveres til et godkjent avfallsanlegg.

Panther Fusion forbedrerreagens-B (FER-B)
LITIUMHYDROKSIDMONOHYDRAT 5–10 %

FARE
H302 – Farlig ved svelging.
H314 – Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.
P264 – Vask ansikt, hender og eventuelle eksponerte hudområder grundig etter bruk.
P270 – Ikke spis, drikk eller røyk ved bruk av produktet.
P330 – Skyll munnen.
P501 – Innhold/beholder leveres til et godkjent avfallsanlegg.
P260 – Ikke innånd støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.
P280 – Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.
P301 + P330 + P331 – VED SVELGING: Skyll munnen. IKKE framkall brekning.
P303 + P361 + P353 – VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann [eller dusj].
P304 + P340 – VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet.
P305 + P351 + P338 – VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.
P310 – Kontakt umiddelbart GIFTINFORMASJONSSENTRALEN eller en lege.
P321 – Særlig behandling (se førstehjelpsinstruksjoner på etiketten).
P363 – Tilsølte klær må vaskes før de brukes på nytt.
P405 – Oppbevares innelåst.

Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser

A. Følgende tabell inneholder krav til oppbevaring og håndtering av dette assayet.

Reagens	Uåpnet oppbevaring	På instrumentet/ Åpen stabilitet[1]	Åpnet oppbevaring
Panther Fusion BKV Quant-assaykassett	2 °C til 8 °C	60 dager	2 °C til 8 °C[2]
Panther Fusion innfangingsreagens-B (FCR-B)	15 °C til 30 °C	30 dager	15 °C til 30 °C
Panther Fusion forbedrerreagens-B (FER-B)	15 °C til 30 °C	30 dager	15 °C til 30 °C
Panther Fusion intern kontroll-B (IC-B)	2 °C til 8 °C	(I wFCR-B)	Ikke relevant
Panther Fusion-elueringsbuffer	15 °C til 30 °C	60 dager	15 °C til 30 °C
Panther Fusion olje	15 °C til 30 °C	60 dager	15 °C til 30 °C
Panther Fusion rekonstitusjonsbuffer I	15 °C til 30 °C	60 dager	15 °C til 30 °C
Panther Fusion BKV Quant-kalibratorer (1–5)	-15 °C til -35 °C	Hetteglass til engangsbruk	Ikke relevant-til engangsbruk
Panther Fusion EBV–BKV Quant høy positiv kontroll	-15 °C til -35 °C	Hetteglass til engangsbruk	Ikke relevant-til engangsbruk
Panther Fusion EBV–BKV Quant lav positiv kontroll	-15 °C til -35 °C	Hetteglass til engangsbruk	Ikke relevant-til engangsbruk
Panther Fusion negativ kontroll (III)	-15 °C til -35 °C	Hetteglass til engangsbruk	Ikke relevant-til engangsbruk

Når reagenser fjernes fra Panther Fusion-systemet, skal de umiddelbart returneres til sine riktige oppbevaringstemperaturer.

[1] Stabiliteten på instrumentet starter når reagensen plasseres på Panther Fusion-systemet for Panther Fusion BKV Quant-assaykassetten, FCR-B, FER-B og IC-B. Stabiliteten på instrumentet starter for Panther Fusion rekonstitusjonsbuffer I, Panther Fusion elueringsbuffer og Panther Fusion oljereagens når reagenspakken først brukes.

[2] Hvis assaykassetten fjernes fra Panther Fusion-systemet, skal den oppbevares i en lufttett beholder med tørkemiddel ved den anbefalte oppbevaringstemperaturen.

B. Arbeidende Panther Fusion innfangingsreagens-B (wFCR-B) og Panther Fusion forbedrerreagens-B (FER-B) er stabile i 60 dager når de oppbevares med hette ved 15 ºC til 30 ºC. Skal ikke nedkjøles.

C. Kast eventuelt ubrukte reagenser der stabiliteten på instrumentet er overgått.

D. Unngå krysskontaminasjon under håndtering og oppbevaring av reagenser.

E. **Ikke frys reagensene.**

F. **Kontroller og kalibratorer må ikke fryses på nytt.**

Prøvetaking, prosessering og oppbevaring

Enkeltprøver - Klinisk materiale som er tatt fra pasienter og plassert i et egnet transportsystem. Ved Panther Fusion BKV Quant-assayet inkluderer dette urinprøver samlet i primærrør der plasmaprøvene i rørene inneholder EDTA-antikoagulanter eller plasmaprepareringsrør (PPT-er).

Prøver - Representerer et mer generisk begrep som beskriver testing på Panther Fusion-systemet inkludert enkeltprøver, prosesserte enkeltprøver overført til et Aptima urinprøvetransportrør, kalibratorer og kontroller.

Merknad: *Håndter alle prøver som om de inneholder potensielt infeksiøse stoffer. Bruk globale forholdsregler.*

Merknad: *Påse at du unngår krysskontaminasjon under prøvehåndteringstrinnene. Brukt materiale skal for eksempel avhendes uten å føre dem over åpne rør.*

Merknad: *Kun sekundærrør i plast anbefales for prøveoppbevaring.*

A. Prøvetaking

1. Fullblodsprøver som tappes i følgende glass- eller plastrør, kan brukes for å preparere plasma:
   - Rør som inneholder EDTA-antikoagulanter
   - Plasmatilberedningsrør (PPT-er)
2. Urinprøver bør samles in en kopp.
   - Etter innsamling må urinprøver i den primære innsamlingsbeholderen må overføres innen en time ved 30 °C eller innen 6 timer hvis prøven oppbevares mellom 2 °C og 8 °C til Aptima urinprøve-transportrøret.
   - Før urinprøver kan testes, bør urin i primærkoppen blandes grundig ved å at snu den før den overføres til Aptima urinprøvetransportrøret som inneholder urintransportmedium.

B. Prøveprosessering

1. Prosessering av plasmaprøver:
   - Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og må sentrifugeres innen 24 timer etter prøvetaking.
   - Plasma kan prepareres fra enten EDTA- eller PPT-primærrør.
   - Separer plasma fra de pelleterte røde blodcellene i henhold til produsentens instruksjoner for røret som brukes.

- Plasma kan testes på Panther Fusion-systemet i et primærrør eller overført til et sekundærrør som f.eks. Aptima®-prøvealikvotrøret (SAT). Se følgende tabell for å sikre tilstrekkelig prøvevolum.

Tabell 1: Minimum prøvevolum

Rør (størrelse og type)	Minste volum for 1 replikat
Aptima-prøvealikvotrør (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 plasma ikke testes umiddelbart, kan det oppbevares i henhold til *Prøveoppbevaringsforhold*.
- Hvis plasmaet overføres til et sekundærrør, kan det fryses ved -20 °C.
- Ikke frys plasma i EDTA primære prøvetakingsrør.

2. Prosessering av urinprøve:
   - Overfør 2000 µl med urin innen en time ved 30 °C eller innen 6 timer hvis den oppbevares mellom 2 °C og 8 °C i et Aptima-urinprøve-transportrør (se *Håndtere urinprøve* om prøvehåndtering).
   - Bytt ut hetten, og bland prøven forsiktig i minst 5 sekunder.

C. Prøveoppbevaringsforhold

Enkeltprøver kan lagres under ett av følgende forhold:

1. Plasmastabilitet
   - Uprosesserte enkeltprøver er stabile i 24 timer ved 2 °C til 30 °C etter sentrifugering.
   - Uprosesserte enkeltprøver er stabile i 5 dager ved 2 °C til 8°C etter sentrifugering.
   - Uprosesserte og prosesserte enkeltprøver er stabile i 60 dager ved -20 °C etter sentrifugering.
   - Frosne enkeltprøver er også stabile i inntil tre fryse-tine-sykluser.
2. Urinprøvestabilitet
   - Uprosesserte enkeltprøver er stabile i 6 timer ved 2 °C til 8 °C eller 1 time ved 30 °C.
   - Prosesserte enkeltprøver er stabile i 24 timer ved 2 °C til 30 °C.
   - Prosesserte enkeltprøver er stabile i 5 dager ved 2 °C til 8 °C.
   - Prosesserte enkeltprøver er stabile i 60 dager ved -20 °C.
   - Frosne enkeltprøver er også stabile i inntil tre fryse-tine-sykluser.

Prøver ombord i Panther Fusion-systemet

Plasma og prosesserte urinprøver kan forbli på Panther Fusion-systemet uten hette i inntil 8 timer. Prøvene kan fjernes fra Panther Fusion-systemet og testes så lenge den totale tiden ombord ikke overstiger 8 timer før Panther Fusion-systemet pipetterer prøven.

Prøvetransport

Oppretthold de beskrevne kravene til oppbevaring av prøver under transport *Prøvetaking, prosessering og oppbevaring*.

Merknad: *Prøvene skal sendes i henhold til gjeldende statlige, internasjonale og regionale transportregler.*

Panther Fusion-system

Panther Fusion-systemet er et integrert system for nukleinsyretesting som helautomatiserer alle trinn som er nødvendige for å utføre Panther Fusion-assayer, fra prøveprosessering til amplifikasjon, deteksjon og datareduksjon.

Reagenser og materialer som leveres ved Panther Fusion BKV Quant-assayet

Assaypakke

Komponenter	Delenummer	Lagring
Panther Fusion BKV Quant-assaykalibratorer PCAL 1 qBKV, 3 per eske PCAL 2 qBKV, 3 per eske PCAL 3 qBKV, 3 per eske PCAL 4 qBKV, 3 per eske PCAL 5 qBKV, 3 per eske	PRD-07234	-15 °C til -35 °C
Panther Fusion EBV–BKV Quant-assaykontroller HPC høyt positivt kontrollrør, 5 per eske LPC lavt positivt kontrollrør, 5 per eske NC III-transplantat negativt kontrollrør, 5 per eske	PRD-07158	-15 °C til -35 °C
Panther Fusion BKV Quant-assaykassett 96 tester Panther Fusion qBKV assaykassett, 12 tester, 8 per eske	PRD-07232	2 °C til 8 °C
Panther Fusion intern kontroll-B, 960 tester Panther Fusion Internal Control-B-rør, 4 per eske	PRD-06234	2 °C til 8 °C
Panther Fusion ekstraheringsreagens-B, 960 tester Panther Fusion Capture Reagent-B flaske, 240 tester, 4 per eske Panther Fusion forbedrerreagens-B flaske, 240 tester, 4 per eske	PRD-06232	15 °C til 30 °C
Panther Fusion elueringbuffer 2400-tester Panther Fusion-elueringsbuffer-pakke, 1200 tester, 2 per eske	PRD-04334	15 °C til 30 °C
Panther Fusion rekonstruksjonsbuffer I 1920 tester Panther Fusion rekonstitusjonsbuffer I, 960 tester, 2 per eske	PRD-04333	15 °C til 30 °C
Panther Fusion oljereagens 1920-tester Panther Fusion oljereagens, 960 tester, 2 per eske	PRD-04335	15 °C til 30 °C

Nødvendige materialer som er tilgjengelige separat

Merknad: *Materialer tilgjengelig fra Hologic har oppførte katalognumre, med mindre annet er angitt.*

Materiale	Kat. nr.
Panther®-system	303095
Panther Fusion®-modul	PRD-04173
Panther Fusion®-system	PRD-04172
Panther-system, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® assayvæskesett *(Aptima vaskeoppløsning, Aptima buffer for deaktiveringsvæske og Aptima oljereagens)*	303014 (1000 tester)
Multirørenheter (MTU-er)	104772-02
Panther avfallspose-sett	902731
Panther avfallsbeholder, deksel	504405
eller Panther-systemets kjøringssett *inneholder MTU-er, avfallsposer, deksler på avfallsbeholdere, assayvæsker og automatiske deteksjoner**	303096 (5000 tester)
Spisser, 1000 µL, filtrert, væskefølende, ledende og til engangsbruk *Ikke alle produktene er tilgjengelige i alle regioner. Kontakt representanten din for regionspesifikk informasjon.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Panther Fusion-rørbrett, 1008 tester, 18 brett per eske	PRD-04000
Aptima urinprøvetransportrør *Kun til prosessering av urinprøver*	105575 (100 forhåndsfylte rør per pose)
Reserve Hologic massive hetter (rørhette til engangsbruk)	PRD-06720 (100 hetter per pose)
Blekemiddel, 5 % til 8,25 % (0,7 M til 1,16 M) natriumhypoklorittløsning **Merk:** Se *Operatørhåndbok for Panther / Panther Fusion System* for instruksjoner om tilberedelse av fortynnet natriumhypoklorittløsning.	—
Pulverfrie engangshansker	—
Plastbelagte overtrekk for laboratoriebenker	—
Lofrie kluter	—
Pipette	—
Spisser	—
Primære prøvetakingsrør (EDTA og PPT) valg: 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
Sentrifuge	—
Virvelblander	—

*Kun nødvendig for Aptima TMA-assayer.

Valgfri materialer

Materiale	Kat. nr.
Alternativer for sekundærrør: 12 mm x 75 mm 13 mm x 100 mm 16 mm x 100 mm	 — — —
Aptima alikvot prøverør (SAT-er (Specimen Aliquot Tubes)) (100 per pakke)	FAB-18184
Transportrørhette (100 pakke) *hette for SAT*	504415
Aptima prøvefortynningsmiddel	PRD-03003
Aptima prøvefortynningssett *inneholder Aptima prøvefortynningsmiddel, 100 SAT-er og 100 hetter*	PRD-03478
Overføringspipetter	—
Rørvugge	—

Panther Fusion-system testprosedyre

Merknad: *Se Operatørhåndbok for Panther- / Panther Fusion-system for mer informasjon om prosedyrer.*

A. Klargjøre arbeidsområdet

1. Tørk av arbeidsflatene med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen være i kontakt med overflatene i minst 1 minutt, og følg deretter opp med deionisert (DI) vann. Ikke la natriumhypoklorittløsningen tørke inn. Dekk til benkeflatene med rene, plastbelagte, absorberende laboratoriebenktrekk.
2. Rengjør separate arbeidsflatene der reagenser skal prepareres. Bruk prosedyren beskrevet ovenfor (trinn A.1).
3. Rengjør eventuelle pipetter. Bruk rengjøringsprosedyrene beskrevet ovenfor (trinn A.1).

B. Preparere kalibratorer og kontroller

La kalibratoren og kontrollene nå 15 °C til 30 °C før preparering slik:

1. Fjern kalibratorene og kontrollene fra oppbevaringen (-15 °C til -35 °C) og sett dem i 15 °C til 30 °C. Under tiningen skal hvert rør snus for å oppnå grundig blanding. Sørg for at rørinnholdet er fullstendig tint før bruk.

   Alternativ. Kalibrator- og kontrollrør kan plasseres på en rørvugge for å blande grundig. Sørg for at rørinnholdet er fullstendig tint før bruk.

   Merknad: *Unngå å danne <u>for mye</u> skum når du snur kalibratorene og kontrollene. Skum vil ødelegge Panther Fusion-systemets nivågjenkjenningsfunksjon.*
2. Når rørinnholdet er tint, tørkes utsiden på røret med en ren, tørr engangsklut.
3. For å hindre kontaminasjon skal rørene ikke åpnes på dette tidspunkt.

C. Preparere reagens

1. Fjern flaskene med IC-B, FCR-B og FER-B fra oppbevaringen.
2. Bland FCR-B til kulene er helt suspendert. Unngå at det dannes skum under dette trinnet.

3. Åpne flaskene med IC-B, FCR-B og FER-B, og kast hettene. Åpne TCR-luken i den øvre åpningen på Panther Fusion-systemet.
4. Plasser flaskene med IC-B, FCR-B og FER-B på riktig sted på TCR-karusellen.
5. Lukk TCR-luken.

Merknad: *Panther Fusion-systemet legger IC-B til FCR-B. Etter at IC-B er lagt til FCR-B, kalles den wFCR-B (arbeidende FCR-B). Hvis wFCR-B og FER-B fjernes fra systemet, skal du bruke nye hetter og den skal omgående oppbevares under riktige oppbevaringsforhold.*

D. Håndtere enkeltprøve

Merknad: *Preparer enkeltprøver iht. instruksjonene i delen Prøvetaking, prosessering og oppbevaring før prøvene settes inn i Panther Fusion-systemet.*

Kontroller prøverørene før de settes på stativet. Hvis et prøverør har bobler eller mindre volum enn det som vanligvis observeres, skal du slå lett på bunnen av røret for å få innholdet ned i bunnen.

E. Håndtere plasmaprøve

1. Sørg for at prosesserte prøver i primærrør eller ufortynnede prøver i sekundærrør er lagret korrekt i henhold til *Prøvetaking, prosessering og oppbevaring*.
2. Sørg for at frosne prøver er fullstendig tint. Virvelbland de tinte prøvene i 3 til 5 sekunder for å blande grundig.
3. La prøvene nå 15 °C til 30 °C før behandling. Se *Prøver ombord i Panther Fusion-systemet* for ytterligere ombordinformasjon.
4. Kontroller at alle primære og sekundære rør har nok prøve. Se Tabell 1 for å finne minimalt prøvevolum for 1 replikat.
5. Rett før prøvene lastes inn i prøvestativet, sentrifuger hver prøve ved 1000 til 3000 *g* i 10 minutter. Ikke fjern hettene i dette trinnet.

   Se trinn G.2 nedenfor for informasjon om lasting av stativet og fjerning av hetter.

F. Håndtere urinprøve

1. Sørg for at prøver i primærrør eller prosesserte prøver i Aptima urinprøvetransportrør er lagret korrekt i henhold til *Prøvetaking, prosessering og oppbevaring*.
2. Kontroller at frosne enkeltprøver i Aptima urinprøvetransportrør er grundig tint.
3. La prøvene nå 15 °C til 30 °C før testing på Panther Fusion-systemet. Se *Prøver ombord i Panther Fusion-systemet* for ytterligere ombordinformasjon.

   Merknad: *Unngå å sette inn enkeltprøver som inneholder presipitater, på Panther Fusion-systemet.*

4. Snu Aptima urinprøvetransportørene forsiktig minst 3 ganger, eller bland forsiktig med en vugge, til urinen er homogen.

   Merknad: *Unngå å danne <u>for mye</u> skum når du snur eller blander rørene. Skum kan ødelegge Panther Fusion-systemets nivågjenkjenningsfunksjon.*

   Se trinn G.2 nedenfor for informasjon om lasting av stativet og fjerning av hetter.

G. Preparere systemet

1. For instruksjoner om å sette opp Panther Fusion-systemet inkludert å sette inn prøver, reagenser, assaykassetter og universalvæsker se *Operatørhåndbok for Panther- / Panther Fusion-system* og *Prosedyremerknader.*

2. Last prøvene inn på prøvestativet. Utfør følgende trinn for hvert prøverør (prøve, og når nødvendig, kalibratorer og kontroller):
   a. Løsne en prøverørshette, men ikke fjern den ennå.

      Merknad: *Vær spesielt forsiktig for å unngå kontaminasjon ved spredning av aerosoler. Løsne hettene på prøvene forsiktig.*

   b. Last prøverørene inn på prøvestativet.
   c. Gjenta trinn 2.a og 2.b for hver gjenværende prøve.
   d. Når prøven har blitt lastet inn på prøvestativet, fjernes og kastes hver prøverørshette på ett prøvestativ. For å unngå kontaminasjon skal en hette ikke føres over noen andre prøvestativer eller prøverør.
   e. Om nødvendig brukes en ny overføringspipette til engangsbruk for å fjerne bobler eller skum. Bobler i røret vil ødelegge Panther Fusion-systemets nivågjenkjenningsfunksjon.
   f. Når den siste hetten er fjernet, lastes prøvestativet inn i prøvebrønnen.

      Merknad: *Dersom andre analyser og prøvetyper kjøres samtidig, skal prøveholderen festes før prøvestativet settes inn i prøvebrønnen.*

   g. Gjenta trinn 2.a til 2.f for neste prøvestativ.

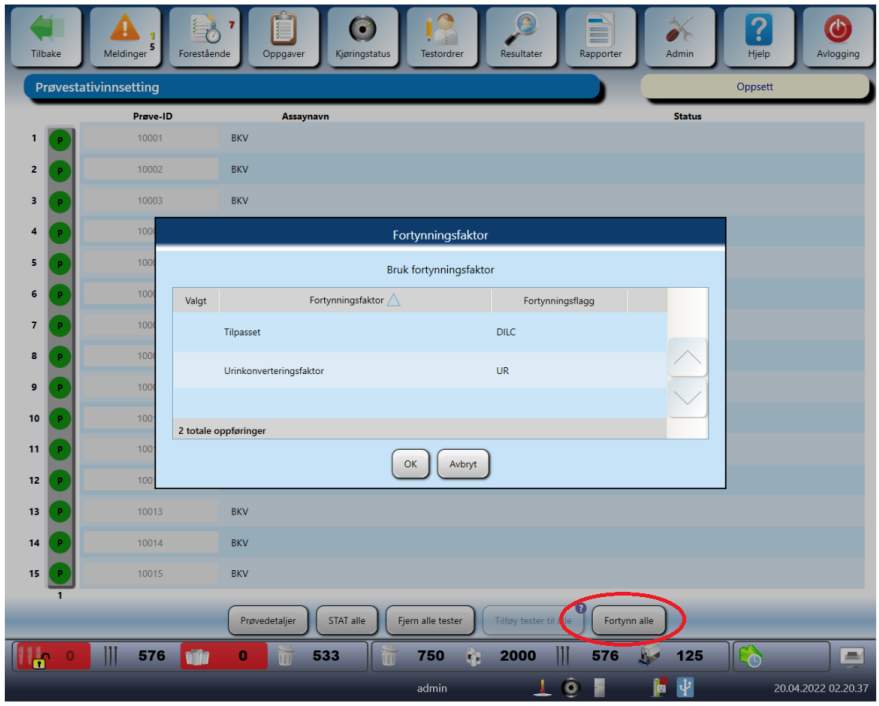
H. Preparere systemet: Bruke konverteringsfaktoren ved urinprøve
   1. Sett opp systemet i henhold til instruksjonene i *Operatørhåndbok for Panther- / Panther Fusion-system.*
   2. Sett inn enkeltprøvestativer.
   3. Bruk urinkonverteringsfaktor for å analysere testordre for urinprøver.

      Merknad: *Konverteringsfaktor ved* urinen *kan gjøres gjeldende i hele stativet eller på en enkel testordre.*

      For å bruke urinkonverteringsfaktoren på hele stativet med urinprøver:

      a. På skjermbildet *Sample Rack Bay* (Skuffeseksjon til prøvestativ) dobbeltklikker du på det innsatte stativet av interesse. Skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting) vises for det valgte stativet.
      b. Velg **Dilute All (Fortynn alle)**.

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



Figur 1. Vinduet Dilution Factor (Fortynningsfaktor) på skjermen Sample Rack Loading (Prøvestativinnsetting) (eksempel)

c. Velg **Urine Conversion Factor (Urinkonverteringsfaktor)**.

d. Velg **OK.**

Vinduet *Set Dilution Factor for Rack* (Angi fortynningsfaktor for stativ) vises.

e. Velg **Yes (Ja)** for å bruke urinkonverteringsfaktorflagget på hele stativet med urinprøver.

For å bruke urinkonverteringsfaktoren på en enkel testordre (se Figur 2):

a. På skjermbildet *Sample Rack Bay* (Skuffeseksjon til prøvestativ) dobbeltklikker du på det innsatte stativet som inneholder den eller de aktuelle pasientprøvene.

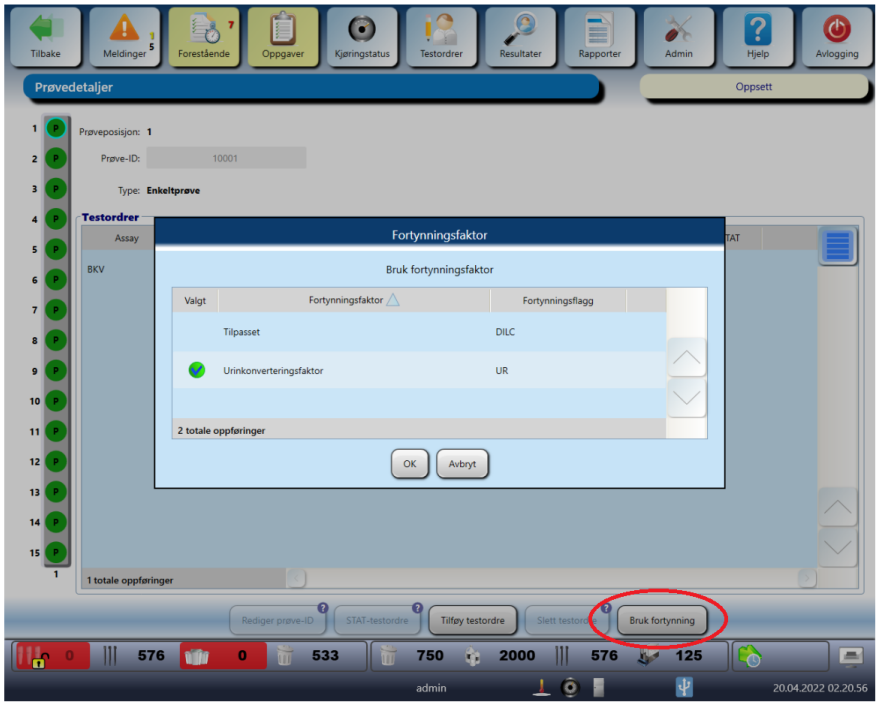
Skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting) vises for det valgte prøvestativet.

b. Dobbeltklikk på den aktuelle pasientprøven fra skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting).

Skjermbildet *Sample Details* (Prøvedetaljer) vises med de gjeldende testordrene for den valgte enkeltprøven.

c. Velg den aktuelle testordren fra panelet *Test Orders* (Testordrer).

d. Velg **Apply Dilution (Bruk fortynning)**.



Figur 2. Vinduet Dilution Factor (Fortynningsfaktor) på skjermen Sample Details (Prøvedetaljer) (eksempel)

e. Velg **Urine Conversion Factor (Urinkonverteringsfaktor)**.

f. Velg **OK** for å bruke urinkonverteringsfaktorflagget for å velge alle valgte testordre.

4. Om nødvendig kan urinfaktoren fjernes fra testordrer før prosessering av testordren starter.

For å slette urinkonverteringsfaktoren fra et helt stativ:

a. På skjermbildet *Sample Rack Bay* (Skuffeseksjon til prøvestativ) dobbeltklikker du på det innsatte stativet av interesse.

Skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting) vises for det valgte stativet.

b. Velg **Dilute All (Fortynn alle)**.

c. Fra vinduet *Dilution Factor* (Fortynningsfaktor) velger du bort **Urine Conversion Factor (Urinkonverteringsfaktor)**.

d. Velg **OK.**

Vinduet *Set Dilution Factor for Rack* (Angi fortynningsfaktor for stativ) vises.

e. Velg **Yes (Ja)** for å slette urinkonverteringsfaktoren fra hele stativet.

For å slette urinkonverteringsfaktoren fra assay-testordrer:

a. På skjermbildet *Sample Rack Bay* (Skuffeseksjon til prøvestativ) dobbeltklikker du på det innsatte stativet som inneholder den eller de aktuelle pasientprøvene.

Skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting) vises for det valgte prøvestativet.

b. Dobbeltklikk på den aktuelle pasientprøven fra skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting).

Skjermbildet *Sample Details* (Prøvedetaljer) vises med de gjeldende testordrene for den valgte enkeltprøven.

c. Velg den aktuelle testordren fra panelet *Test Orders* (Testordrer).

d. Velg **Apply Dilution (Bruk fortynning)**.

e. Fra vinduet *Dilution Factor* (Fortynningsfaktor) velger du bort **Urine Conversion Factor (Urinkonverteringsfaktor)**.

f. Velg **OK** for å slette urinkonverteringsfaktoren fra testordren.

Prosedyremerknader

A. Kalibratorer og kontroller

1. qBKV-kalibratorene (5 rør), EBV–BKV lav positiv kontroll (LPC), EBV–BKV høy positiv kontroll (HPC)- og transplantat negativ kontroll (NC III)-rør kan settes i en hvilken som helst posisjon i prøvestativet og en hvilken som helst prøvebrønnbane på Panther Fusion-systemet. Kalibrator- og kontrollpipettering starter når BKV-prøver er satt inn på systemet. Prøvepipetteringen vil begynne når ett av følgende to forhold er oppfylt:
   a. Kalibratorene og kontrollene blir nå prosessert av systemet.
   b. Gyldige resultater for kalibratorene og kontrollene registreres på systemet.
2. Etter at kalibrator- og kontrollrørene er pipettert og prosesseres for Panther Fusion BKV Quant-assayet, kan enkeltprøvene testes. Kalibreringsresultater er gyldig i 60 dager og kontrollresultater er gyldig inntil 30 dager (hyppigheten konfigureres av en administrator) **med mindre:**
   a. Kalibratorresultatene er ugyldige.
   b. Kontrollresultatene er ugyldige.
   c. Operatøren ber om å få kjøre nye kontroller/kalibratorer i Panther Fusion-systemets programvare.
3. En kalibrering kreves for å hver hvert nytt assaykassettparti som settes inn på Panther Fusion-systemet før det brukes til prøveprosessering.
4. Hver kalibrator og hvert kontrollrør kan brukes én gang.

Kvalitetskontroll

Assaykalibrering

En assaykalibrering må fullføres for å generere gyldige resultater. Fem positive kalibratorer kjøres tre ganger hver gang et nytt assaykassettparti settes inn i Panther Fusion-systemet. Når dette er fastslått, er assaykalibreringen gyldig i inntil 60 dager. Programvaren på Panther Fusion-systemet varsler operatøren når en kalibrering er nødvendig.

Under prosessering bekrefter Panther Fusion-programvaren automatisk gyldigheten til kalibreringskurven. Hvis kalibreringen ikke klarer gyldighetskontrollene, ugyldiggjør Panther Fusion-systemet automatisk de påvirkede prøvene og det kreves at et nytt sett med assaykalibratorer kjøres før eventuelle nye prøver pipetteres.

Som standard prosesserer assayet prøver som ufortynnet plasma. For å prosessere urinprøver må urinkonverteringsfaktorfortynning velges fra instrument-brukergrensesnittet.

Negative og positive kontroller

Et sett med assaykontroller skal testes for å generere gyldige resultater. Et replikat av NC III (transplantat negativ kontroll), LPC (lav positiv kontroll) og HPC (høy positiv kontroll) må testes hver gang et nytt parti med assaykassetter settes på Panther Fusion-systemet eller når det nåværende sett med gyldige kontroller til en aktiv kassett har utløpt.

Panther Fusion-systemet er konfigurert til å kreve at assaykontroller kjøres med et administratorspesifisert intervall på inntil 30 dager. Programvare til Panther Fusion-systemet varsler operatøren om når det kreves assaykontroller og at det ikke settes i gang nye tester før assaykontrollene er satt inn og prosesseringen er startet.

Under prosessering blir kriteriene for godkjenning av assaykontrollene automatisk verifisert av programvaren til Panther Fusion-systemet. Assaykontrollene må gjennom en rekke gyldighetskontroller som utføres av Panther Fusion-systemet, for å generere gyldige resultater.

Hvis assaykontrollene klarer alle gyldighetskontrollene, regnes de som gyldige i det administratorspesifiserte tidsintervallet. Når tidsintervallet har utløpt, ugyldiggjøres assaykontrollene av Panther Fusion-systemet og et nytt sett med assaykontroller er nødvendig før pipettering av tilleggsprøver.

Hvis en hvilken som helst av assaykontrollene ikke klarer gyldighetskontrollene, ugyldiggjør Panther Fusion-systemet automatisk de påvirkede prøvene og det kreves at et nytt sett med assaykontroller før eventuelle nye prøver pipetteres.

Intern kontroll

En intern kontroll legges til hver prøve under ekstraheringsprosessen. Under prosesseringen blir akseptkriteriene for den interne kontrollen automatisk verifisert av programvaren til Panther Fusion-systemet. Deteksjon av internkontrollen er ikke nødvendig ved prøver som er positive for BKV. Internkontrollen må detekteres i alle prøvene som er negative for BKV. Prøver som ikke innfri det kriterium, rapporteres som ugyldige. Hver prøve med et ugyldig resultat, må testes på nytt.

Programvaren til Panther Fusion-systemet er utarbeidet for å verifisere prosesser på en nøyaktig måte når prosedyrene utføres i henhold til instruksjonene i dette pakningsvedlegget og *Operatørhåndbok for Panther- / Panther Fusion-system*.

Tolkning av resultater

Panther Fusion-systemet bestemmer automatisk konsentrasjonen av BKV DNA for enkeltprøver og kontroller ved å sammenligne resultatene med en kalibreringskurve. BKV DNA-konsentrasjoner rapporteres i IU/mL og log_{10} IU/mL. Tolkning av resultatene finnes i Tabell 2 og Tabell 3.

Tabell 2: Tolkning av plasmaresultater

Rapporterte resultater av BKV Quant-assay		
IU/mL	**Log_{10} verdi**	**Tolkning**
Ikke detektert	Ikke detektert	BKV DNA ikke detektert.
< 79 detektert	< 1,90	BKV DNA er detektert, men med et nivå under den nedre grensen for kvantifisering (LLoQ).
79 til 1,0E09	1,90 til 9,00	BKV DNA-konsentrasjon ligger innenfor det kvantitative området mellom LLoQ til ULoQ IU/mL.
> 1,0E09	> 9,00	BKV DNA-konsentrasjon ligger over den øvre grensen for kvantifisering (ULoQ).
Ugyldig[a]	Ugyldig[a]	Det var en feil i genereringen av resultatet. Prøven bør testes på nytt.

[a] Ugyldige resultater vises med blåfarget skrift.

Tabell 3: Tolkning av urinresultat

Rapporterte resultater av BKV Quant-assay		
IU/mL	**Log_{10} verdi**	**Tolkning**
Ikke detektert	Ikke detektert	BKV DNA ikke detektert.
< 162 detektert	< 2,21	BKV DNA er detektert, men med et nivå under den nedre grensen for kvantifisering (LLoQ).
162 til 2,0E09	2,21 til 9,30	BKV DNA-konsentrasjon ligger innenfor det kvantitative området mellom LLoQ til ULoQ IU/mL.
> 2,0E09	> 9,30	BKV DNA-konsentrasjon ligger over den øvre grensen for kvantifisering (ULoQ).
Ugyldig[a]	Ugyldig[a]	Det var en feil i genereringen av resultatet. Prøven bør testes på nytt.

[a] Ugyldige resultater vises med blåfarget skrift.

Begrensninger

A. Bruk av dette assayet er begrenset til personell som har opplæring i denne prosedyren. Hvis disse instruksjonene ikke følges, kan det føre til feil resultater.

B. Pålitelige resultater er avhengig av tilfredsstillende prøvetaking, transport, oppbevaring og behandling.

C. Unngå kontaminasjon ved å følge god laboratoriepraksis og å følge prosedyrene angitt i dette pakningsvedlegget.

D. Selv om det er sjeldent, kan mutasjoner innen høykonserverte regioner i virusgenom dekket av primere og/eller prober i Panther Fusion BKV Quant-assayet, føre til underkvantifisering av viruset eller at viruset ikke detekteres.

E. Negative resultater utelukker ikke BKV-infeksjoner og skal ikke brukes som eneste grunnlag til avgjørelse om behandling eller andre administrative beslutninger.

F. Et positivt resultat indikerer deteksjon av nukleinsyre fra det aktuelle viruset. Nukleinsyre kan være persistent selv etter at viruset ikke lenger er viabelt.

Ytelse

Deteksjonsgrense ved bruk av WHOs 1. internasjonale standard

Deteksjonsgrensen (LoD) i assayet defineres som konsentrasjonen av BKV DNA som blir detektert ved 95 % eller større sannsynlighet i henhold til CLSI EP17-A2.[7]

Deteksjonsgrense ved bruk av WHOs standard for plasma

LoD ble fastslått ved å teste paneler fra den 1. WHOs internasjonale standard (NIBSC kode 14/212) for BKV fortynnet i BKV-negativt humant plasma. Tjue (20) replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenspartiene for en samlet mengde på 60 replikater per fortynning. Probit-analysen ble utført for å generere forutsagte deteksjonsgrenser. LoD-verdiene vist i Tabell 4 er resultater fra reagenspartiet med høyeste forutsagt deteksjonsgrense. LoD for Panther Fusion BKV Quant-assayet med bruk av WHOs 1. internasjonale standard er 43,1 IU/mL for plasma.

Tabell 4: Deteksjonsgrensen for plasma ved bruk av WHOs 1. internasjonale standard for BKV

Forutsagt deteksjonsgrense	Konsentrasjon (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

Deteksjonsgrense ved bruk av WHOs standard for urin

LoD ble fastslått ved å teste paneler fra den 1. WHOs internasjonale standard for BKV fortynnet i BKV-negativ human urin. Tjue (20) replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenspartiene for en samlet mengde på 60 replikater per fortynning. Probit-analysen ble utført for å generere forutsagte deteksjonsgrenser. LoD-verdiene vist i Tabell 5 er resultater fra reagenspartiet med høyeste forutsagt deteksjonsgrense. LoD for Panther Fusion BKV Quant-assayet med bruk av WHOs 1. internasjonale standard er 143,6 IU/mL for urin.

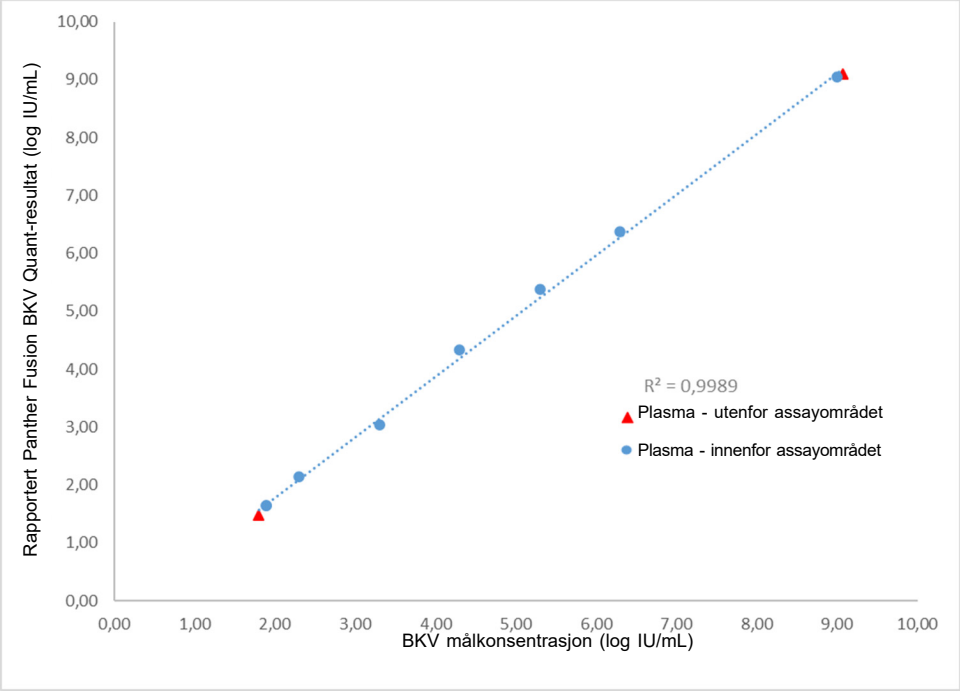
Tabell 5: Deteksjonsgrensen for urin ved bruk av WHOs 1. internasjonale standard for BKV

Forutsagt deteksjonsgrense	Konsentrasjon (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

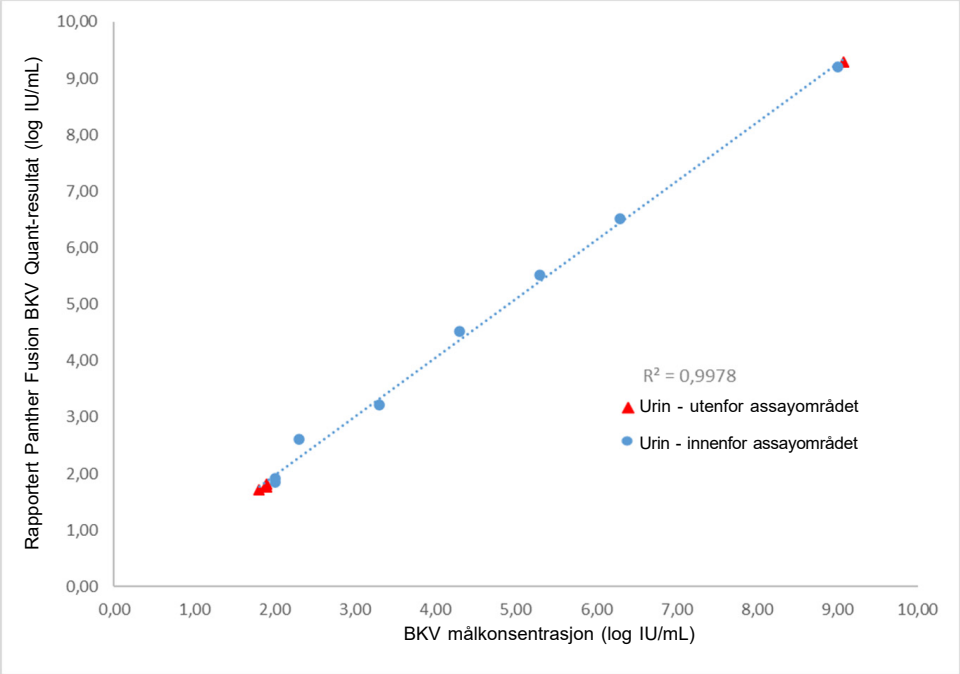
Det lineære området ble fastslått ved å teste paneler med BKV fortynnet i BKV-negativt humant plasma i henhold til CLSI EP06-A.[8]-paneler, med konsentrasjon fra 1,80 log IU/mL til 9,08 log IU/mL. Panther Fusion BKV Quant-assayet demonstrerte linearitet på tvers av det testede området. Den øvre kvantifiseringsgrensen (ULoQ) til assayet er 9,00 log IU/mL som vist i Figur 3.



Figur 3. Linearitet i plasma

Lineært område i urin

Det lineære området ble fastslått ved å teste paneler med BKV fortynnet i BKV-negativ human urin i henhold til CLSI EP06-A.[8]-paneler, med konsentrasjon fra 2,11 log IU/mL til 9,38 log IU/mL. Panther Fusion BKV Quant-assayet demonstrerte linearitet på tvers av det testede området. Den øvre kvantifiseringsgrensen (ULoQ) til assayet er 9,30 log IU/mL som vist i Figur 4.



Figur 4. Linearitet i urin

Nedre kvantifiseringsgrense med WHOs 1. internasjonale standard

Den nedre kvantifiseringsgrensen (LLoQ) defineres som den laveste konsentrasjonen hvor BKV pålitelig kvantifiseres iht. CLSI EP17-A2.[7] Total feil ble anslått ved bruk av Westgard-modellen: Total feil (TE) = |bias| + 2 SD. For å sikre presisjon og nøyaktighet til målingene, ble totalfeilen ved Panther Fusion BKV Quant-assayet angitt til 1,2 log IU/mL, med bias til sannheten og en SD som må være henholdsvis ≤ 0,5 log IU/mL og ≤ 0,35 log IU/mL.

Nedre grense for kvantifisering med WHOs standard for plasma

LLoQ ble fastslått ved å teste paneler fra den 1. WHOs internasjonale standard (NIBSC kode 14/212) for BKV fortynnet i BKV-negativt humant plasma. Tjue (20) replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenspartiene for en samlet mengde på 60 replikater per fortynning. LLoQ-resultatene fra tre reagenspartier vises i Tabell 6. LLoQ generert med WHOs 1. Internasjonal standard for BKV i plasma er 79 IU/mL (1,90 log IU/mL).

Tabell 6: Bestemmelse av LLoQ ved bruk av WHOs 1. internasjonale standard for BKV fortynnet i plasma

Reagensparti	N	N detektert	Målkonsentrasjon (log IU/mL)	BKV Quant-assay (log IU/mL)	SD (log IU/mL)	|Bias| (log IU/mL)	Beregnet TE (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 = standardavvik ≤ 0,35 (log IU/mL).
|Bias| = bias til sannheten ≤ 0,5 (log IU/mL).
Fortynningen som korresponderer med LLoQ-konsentrasjonene og testet i hvert reagensparti, utheves i grått.

Nedre grense for kvantifisering med WHOs standard for urin

LLoQ ble fastslått ved å teste paneler fra den 1. WHOs internasjonale standard (NIBSC kode 14/212) for BKV fortynnet i BKV-negativ human urin. Tjue (20) replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenspartiene for en samlet mengde på 60 replikater per fortynning. LLoQ-resultatene fra tre reagenspartier vises i Tabell 7. LLoQ generert med WHOs 1. Internasjonal standard for BKV i urin er 162 IU/mL (2,21 log IU/mL).

Tabell 7: Bestemmelse av LLoQ ved bruk av WHOs 1. internasjonale standard for BKV fortynnet i urin

Reagensparti	N	N detektert	Målkonsentrasjon (log IU/mL)	BKV Quant-assay (log IU/mL)	SD (log IU/mL)	|Bias| (log IU/mL)	Beregnet TE (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 = standardavvik ≤ 0,35 (log IU/mL).
|Bias| = bias til sannheten ≤ 0,5 (log IU/mL).
Fortynningen som korresponderer med LLoQ-konsentrasjonene og testet i hvert reagensparti, utheves i grått.

Bekreftelse av den nedre kvantifiseringsgrensen på tvers av BKV-genotyper

Nedre grense for kvantifisering med på tvers av genotyper i plasma

LLoQ etablert ved bruk av WHO-standarden ble vurdert av å teste BKV-genotyper I (1b-2) og IV tilsatt med 3x LLoQ i BKV-negativt humant plasma. Tre replikater av hvert panelmedlem ble testet med ett reagensparti. Resultatene vises i Tabell 8.

Tabell 8: Bekreftelse av LLoQ på tvers av genotyper i plasma

Isolat (genotype)	N	N detektert	Målkonsentrasjon (log IU/mL)	BKV Quant-assay (log IU/mL)	SD (log IU/mL)	|Bias| (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 = standardavvik

Nedre grense for kvantifisering med på tvers av genotyper i urin

LLoQ etablert ved bruk av WHO-standarden ble vurdert av å teste fortynninger av BKV-genotyper I (1b-2) og IV i BKV-negativt human urin. Tre replikater av hvert panelmedlem ble testet med ett reagensparti. Resultatene vises i Tabell 9.

Tabell 9: Bekreftelse av LLoQ på tvers av genotyper i urin

Isolat (genotype)	N	N detektert	Målkonsentrasjon (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

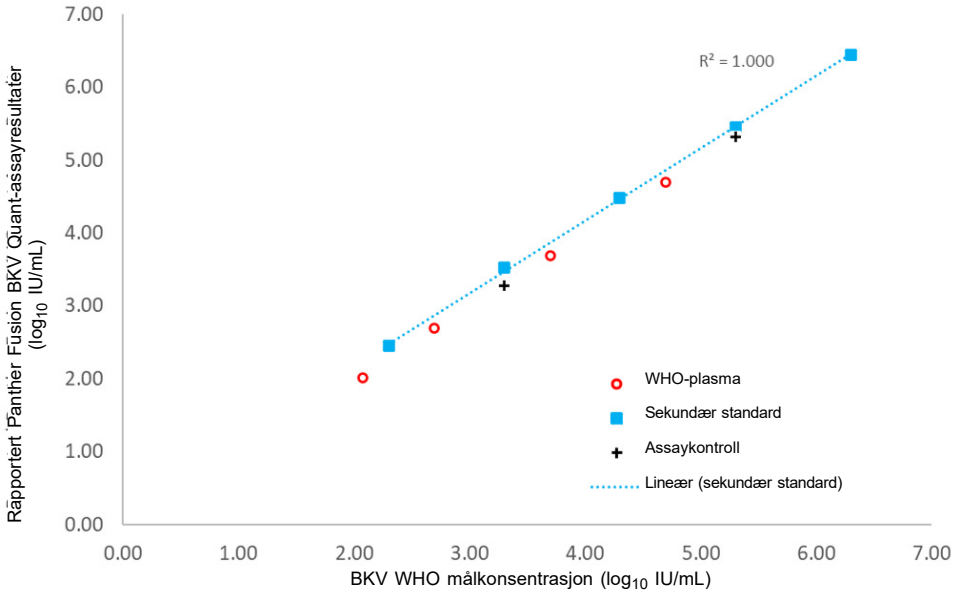
SD = standardavvik

Sporbarhet til WHOs 1. Internasjonal standard

En rekke med sekundære standarder med kjente konsentrasjoner ble brukt under hele produktutviklingen og produktproduksjonen for å etablere sporbarhet med WHO-standarden. BKV 1. WHO-standard ble fortynnet og testet sammen med de sekundære standardene samt som assaykontroller, og kalibratorer som brukes i Panther Fusion BKV Quant-assayet for å evaluere sporbarhet iht. CLSI EP32-R.[9] De sekundære standardene har konsentrasjoner fra 2,30 til 6,30 $\log_{10}$ IU/mL.

Sporbarhet til WHO-standard ved bruk av plasma

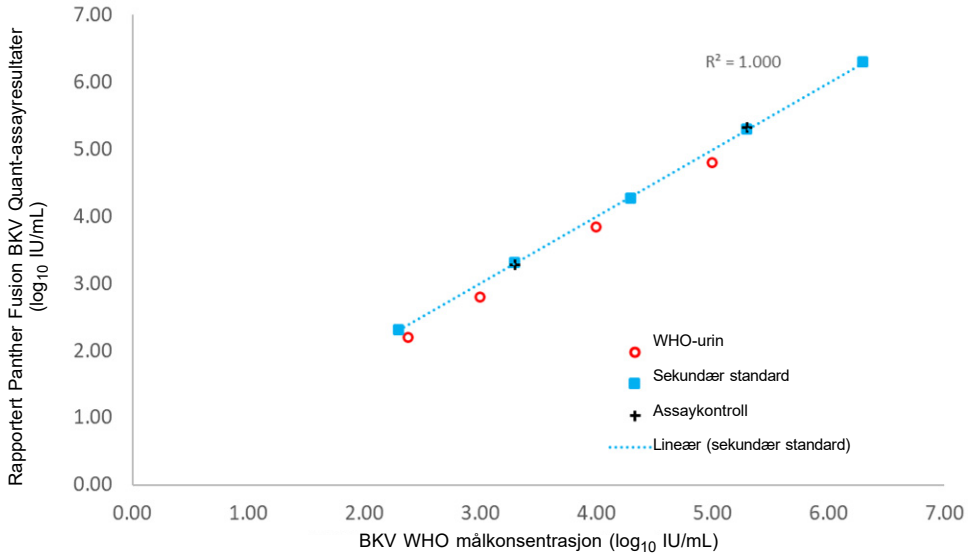
Konsentrasjonene testet for BKV 1. WHO-standarden var mellom 2,07 og 4,70 log IU/mL. WHO-plasmapaneler, sekundære standarder, assaykontroller og assaykalibratorer gjenvunnet som forventet på tvers av det lineære området til assayet som vises i Figur 5.



Figur 5. Sporbarhet mellom BKV 1. WHO-standard målkonsentrasjoner og rapporterte konsentrasjoner i Panther Fusion BKV Quant-assay (WHO-standard fortynnet i plasma)

Sporbarhet til WHO-standard ved bruk av urin

Konsentrasjonene testet for BKV 1. WHO-standarden i urin var mellom 2,38 og 5,00 log_{10} IU/mL. WHO-urinpaneler, sekundære standarder, assaykontroller og assaykalibratorer gjenvunnet som forventet på tvers av det lineære området til assayet som vises i Figur 6.



Figur 6. Sporbarhet mellom BKV 1. WHO-standard målkonsentrasjoner og rapporterte konsentrasjoner i Panther Fusion BKV Quant-assay (WHO-standard fortynnet i urin)

Innen laboratoriepresisjon

Urin

For å vurdere presisjonen innen laboratoriet ble et negativt panel og et 3-leddet panel fremstilt ved å fortynne BKV DNA i BKV-negativ urin. De positive og negative panelene ble testet av 2 operatører med bruk av 3 reagenspartier på 3 Panther Fusion-systemer i løpet av 6 ikke-påfølgende testdager. Hver operatør utførte to kjøringer per dag, og hvert panelmedlem ble testet tre ganger i hver kjøring. Studien ble designet og analysert der anbefalingene i CLSI EP-05-A3 ble fulgt.[10]

Tabell 10 viser reproduserbarheten til assayresultater (i log IU/mL) for de positive panelene mellom instrumenter, mellom operatører, mellom reagenspartier, mellom kjøringer, mellom dager, innen kjøringer og totalt. Total variabilitet var hovedsakelig på grunn av innenfor kjøring-variabilitet (dvs. tilfeldig feil). Alle replikater til det negative panelet var negative.

Tabell 10: Reproduserbarhet til Panther Fusion BKV Quant-assayet i urin

N	Middels konsentrasjon (log IU/mL)	Inter-parti	Inter-instrument	Inter-operatør	Inter-dag	Inter-kjøring	Intra-kjøring	Samlet
		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 = standardavvik

Potensielt interfererende stoffer

Mottakeligheten til Panther Fusion BKV Quant-assayet for interferens på forhøyde nivåer med endogene stoffer, antikoagulanter og legemidler som vanligvis foreskrives transplantatpasienter, ble fastslått i BKV-negative matriser ved tilstedeværelse eller uteblivelsen av 2,37 log IU/mL og 2,69 log IU/mL med BKV i henholdsvis plasma og urin. Testkonsentrasjonene ved hvert av de interfererende stoffene ble valgt basert på tilgjengelige litteraturreferanser og retningslinjer i CLSI EP07[11] and EP37.[12]

Det ble ikke observert noe interferens i kvantifiseringsnøyaktigheten i plasma- eller urinprøver ved tilstedeværelse av potensielt interfererende stoffer som står oppført i Tabell 11 og Tabell 12.

Tabell 11: Plasmaendogene stoffer

Potensielt interfererende stoff	Antall replikater	Testet konsentrasjon
Albumin	3	375 mg/dL
Konjugert bilirubin	3	40 mg/dL
Hemoglobin	3	1000 mg/dL
Human genomisk DNA	3	0,2 mg/dL
Triglyserider	3	3,45 mg/dL
Ukonjugert bilirubin	3	0,40 mg/dL

Tabell 12: Urinendogene stoffer

Potensielt interfererende stoff	Antall replikater	Testet konsentrasjon
Albumin	3	375 mg/dL
Konjugert bilirubin	3	40 mg/dL
Estradiol	3	8E-05 mg/dL
Glukose	3	220 mg/dL
Mucin	3	6 mg/dL
Perifere blodmononukulære celler	3	1E+06 celler/mL
pH, sur (HCl)	3	2 mM
pH, alkalisk (NaOH)	3	0,2 mM
Sæd	3	5 %
Fullblod	3	2 %

Det ble ikke observert noe interferens i nøyaktigheten til kvantifiseringen ved tilstedeværelse av eksogene stoffer som står oppført i Tabell 13 og Tabell 14.

Tabell 13: Eksogene stoffer for plasma

Potensielt interfererende stoff	Antall replikater	Testet konsentrasjon
Acyclovir	3	6,6 mg/dL
Azatiprin	3	0,258 mg/dL
Cefotetan	3	71,1 mg/dL
Cidofovir	3	12,4 mg/dL
Klavulanatkalium	3	1,47 mg/mL
Syklosporin	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
Mykofenolatmofetil	3	18,1 mg/dL
Mykofenolatmofetil-relatert sammensetning-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
Sulfametoksazol	3	35,7 mg/dL
Tacrolimus	3	0,0144 mg/dL
Tazobactamnatrium	3	10,2 mg/dL
Ticarcillindinatrium	3	151 mg/dL
Trimetoprim	3	4,2 mg/dL
Valganciclovir	3	4,83 mg/dL
Vancomycin	3	12 mg/dL

Tabell 14: Eksogene stoffer for urin

Potensielt interfererende stoff	Antall replikater	Testet konsentrasjon
Acetaminofen	3	3 mg/dL
Acetylsalicylsyre	3	3 mg/dL
Klotrimazol	3	0,50 mg/dL
Ibuprofen	3	21,9 mg/dL
Metronidazol	3	12,3 mg/dL
Naproxen	3	36 mg/dL
Fenazopyridinhydroklorid	3	79,5 ng/dL
Propylenglykol	3	135 mg/dL
Talkum	3	5 mg/dL

Analytisk spesifisitet

Potensiell kryssreaktivitet til patogener som står oppført i Tabell 15 ble evaluert i BKV-negative matriser ved tilstedeværelsen eller uteblivelsen av 2,37 log IU/mL og 2,69 log IU/mL med BKV henholdsvis plasma og urin. Patogener ble testet ved den høyeste tilgjengelige konsentrasjonen. Ingen kryssreaktivitet eller interferens ble observert i nøyaktigheten av kvalifiseringen.

Tabell 15: Patogener testet for analytisk spesifisitet

Mikroorganisme/patogen	Konsentrasjon	Mikroorganisme/patogen	Konsentrasjon
ADV-5	1,00E+05 $TCID_{50}$/mL	Humant herpes-virus 7	1,00E+03 $TCID_{50}$/mL
Aspergillus niger	1,00E+06 CFU/mL	Humant herpes-virus 8	1,00E+05 $TCID_{50}$/mL
Bacillus cereus	1,00E+06 CFU/mL	*Klebsiella pneumoniae*	1,00E+06 cp/mL
Bacillus subtilis	1,00E+06 CFU/mL	*Lactobacillus acidophilus*	1,00E+06 CFU/mL
Candida albicans	1,00E+06 CFU/mL	*Lactobacillus crispatus*	1,00E+06 CFU/mL
Candida glabrata	1,00E+06 CFU/mL	*Listeria monocytogenes*	1,00E+06 CFU/mL
Candida parapsilosis	1,00E+06 CFU/mL	*Mycobacterium avium*	1,00E+06 CFU/mL
Candida tropicalis	1,00E+06 CFU/mL	*Mycoplasma pneumoniae*	1,00E+06 CCU/mL
Chlamydia trachomatis	1,00E+06 IFU/mL	*Neisseria gonorrhoeae*	1,00E+06 CFU/mL
Clostridium perfringens	1,00E+06 CFU/mL	Humant parvovirus B19	1,00E+05 IU/mL
CMV	1,00E+05 cp/mL	*Propionibacterium acnes*	1,00E+06 CFU/mL
Corynebacterium diphtheriae	1,00E+06 CFU/mL	*Proteus miribalis*	1,00E+06 CFU/mL
Cryptococcus neoformans	1,00E+06 CFU/mL	*Pseudomonas aeruginosa*	1,00E+06 CFU/mL
EBV	1,00E+05 cp/mL	*Salmonella enterica*	1,00E+06 CFU/mL
Enterobacter cloacae	1,00E+06 CFU/mL	*Staphylococcus aureus*	1,00E+06 CFU/mL
Enterococcus faecalis	1,00E+06 CFU/mL	*Staphylococcus epidermidis*	1,00E+06 CFU/mL
Enterococcus faecium	1,00E+06 CFU/mL	*Staphylococcus saprophyticus*	1,00E+06 CFU/mL
Escherichia coli	1,00E+06 CFU/mL	*Streptococcus agalactiae*	1,00E+06 CFU/mL

Tabell 15: Patogener testet for analytisk spesifisitet (forts.)

Mikroorganisme/patogen	Konsentrasjon	Mikroorganisme/patogen	Konsentrasjon
HBV	1,00E+05 IU/mL	*Streptococcus bovis*	1,00E+06 CFU/mL
HCV	1,00E+04 IU/mL	*Streptococcus oralis*	1,00E+06 CFU/mL
HIV-1	1,00E+05 IU/mL	*Streptococcus pneumoniae*	1,00E+06 CFU/mL
HIV-2	1,00E+04 IU/mL	*Streptococcus pyogenes*	1,00E+06 CFU/mL
HSV-1	1,00E+06 $TCID_{50}$/mL	*Trichomonas vaginalis*	1,00E+05 Trofozoiter/mL
HSV-2	1,00E+04 $TCID_{50}$/mL	*Ureaplasma urealyticum*	1,00E+06 cp/mL
HPV-16 (SiHa-celler infisert)	1,00E+05 celler/mL	Varicella zoster-virus	1,00E+05 cp/mL
Humant herpes-virus 6	1,00E+05 cp/mL	—	—

CCU/mL = Koloniendrende enheter per mL.
CFU/mL = Kolonidannende enheter per mL.
cp/mL = viruskopier per mL.
IFU/mL = Inklusjondannende enheter per mL.
IU/mL = Internasjonale enheter per mL.
$TCID_{50}$/mL = vevkultur infeksiøse doseenheter per mL.

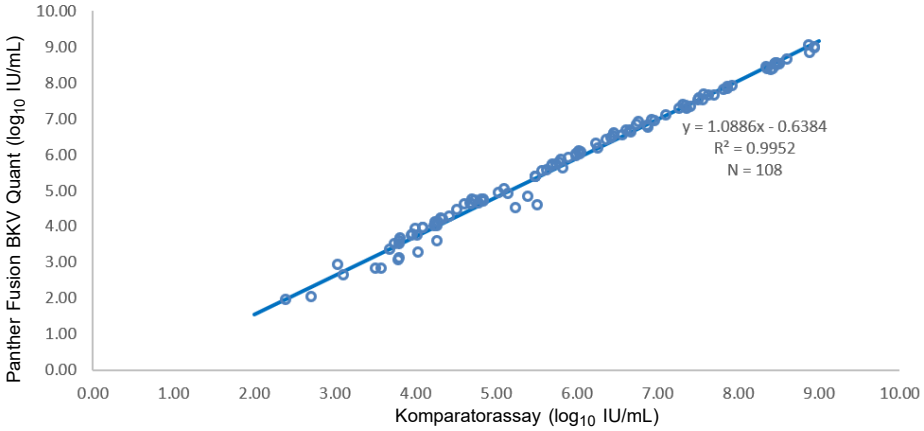
Metodekorrelasjon

Denne studien er utformet iht. CLSI EP09c.[13]

Ytelsen til Panther Fusion BKV Quant-assayet ble vurdert mot et komparatorassay ved å teste retrospektivt innsamlede enkeltprøver og konstruerte enkeltprøver som dekker hele lineærområdet.

Plasmametodekorrelasjon

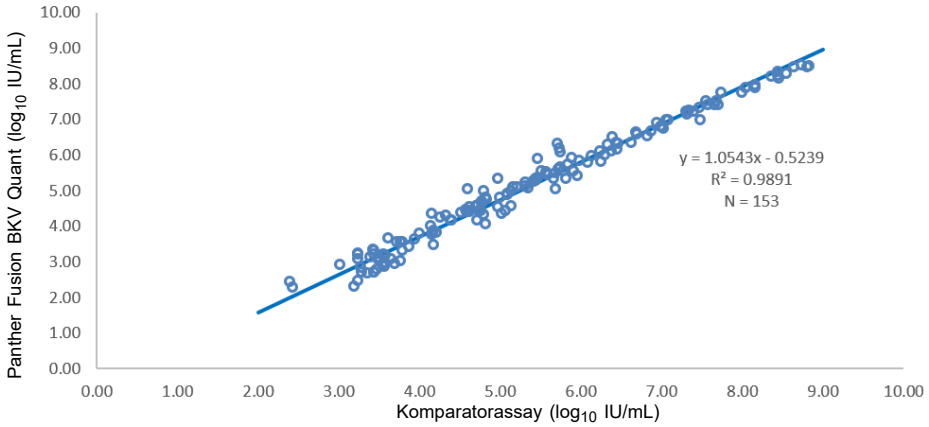
Til sammen 108 kliniske prøver innenfor det lineære området som er felles for begge assayene, ble brukt til Deming-regresjon og demonstrerte en korrelasjonskoeffisient på 99,52 % i plasma som vist i Figur 7.



Figur 7. Korrelasjon mellom BKV-virusmengde og Panther Fusion BKV Quant-assayet og en komparatorassay ved testing av plasmaprøver

Urinmetodekorrelasjon

Til sammen 153 kliniske prøver innenfor det lineære området som er felles for begge assayene, ble brukt til Deming-regresjon og demonstrerte en korrelasjon på 98,91 % som vist i Figur 8.



Figur 8. Korrelasjon mellom BKV-virusmengde og Panther Fusion BKV Quant-assayet og et komparatorassay ved testing av urinprøver

Høyt deteksjonssamsvar ble demonstrert innen felles kvantifiseringsområdet mellom Panther Fusion BKV Quant-assayet og komparatorassayet for EDTA-plasma og for urinprøver, som vist i tabell 16.

Tabell 16: Klinisk samsvar for plasma- og urinprøver

	Plasmaprøver	Urinprøver
%PPA	98,3 (CI 95 %–94,1 til 99,5)	100,0 (CI 95 %–97,7 til 100,0)
%NPA	100,0 (CI 95 %–97,9 til 100,0)	100,0 (CI 95 %–97,3 til 100,0)

Overførings-/krysskontaminasjon

Overføringen ble vurdert med høy titer BKV-tilsatt STM-prøver (1,00E+09 IU/mL) innsatt mellom BKV-negative prøver i et sjakkbrettmønster. Testing er gjennomført med 5 kjøringer. Den totale overføringsfrekvensen 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-nettsted 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.

Kontaktinformasjon og revisjonshistorikk

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

Ansvarlig person i Storbritannia:
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, Australia

For å finne e-postadressen og telefonnummeret til landsspesifikk teknisk støtte og kundeservice besøk www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther og Panther Fusion og tilknyttede logoer er varemerker og/eller registrerte varemerker for Hologic, Inc. og/eller dattereselskaper i USA og/eller andre land.

Quasar er et registrert varemerke og er lisensiert av Biosearch Technologies, Inc.

Alle andre varemerker som kan forekomme i dette pakningsvedlegget, tilhører sine respektive eiere.

Dette produktet kan være dekket av en eller flere USA-patenter, angitt på www.hologic.com/patents.

©2022-2026 Hologic, Inc. Med enerett.

AW-26020-1801 rev. 004
2026-07

Revisjonshistorikk	Dato	Beskrivelse
AW-26020-1801 rev. 002	Desember 2023	• Delen med prøvetaking, prosessering og oppbevaring er oppdatert.
AW-26020-1801 rev. 003	Februar 2025	• Delen med prøvetaking, prosessering og oppbevaring er oppdatert. • Materialer påkrevde oppdatering. • Fareinformasjon er oppdatert til de nyeste SDS-er. • Delen Ytelse er oppdatert. • Tabell 11, 12, 13 og 14 er oppdatert. • Tabell 16 er lagt til. • Delen Metodekorrigering er oppdatert. • Gjorde rutinemessige administrative redigeringer.
AW-26020-1801 rev. 004	Juli 2026	• Oppdaterte avsnittet Tiltenkt bruk for å rette opp en kritisk språklig feil. • Rettet andre mindre språklige feil i hele dokumentet. • Oppdateringer for å klargjøre Panther Fusion-produkter.