

Bordetella Assay (Panther Fusion™ System)

In-vitro-Diagnostikum.

Nur zum US-Export.

INHALT

Allgemeine Informationen	2
Verwendungszweck	2
Zusammenfassung und Testerklärung	2
Verfahrensprinzipien	2
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	3
Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien	6
Probenentnahme und -lagerung	7
Transport von Patientenproben	8
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien	9
Assay-Verpackung	9
Einzel verpackte Artikel	9
Erforderliche und nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	10
Testverfahren mit dem Panther Fusion System	11
Verfahrenshinweise	12
Qualitätskontrolle	12
Negativ- und Positivkontrollen	12
Interne Kontrolle	13
Interpretation der Ergebnisse	13
Einschränkungen	14
Panther Fusion Bordetella Assay-Leistungsdaten	15
Reproduzierbarkeit	15
Klinische Leistungsdaten	16
Analytische Sensitivität	17
Reaktivität	17
Analytische Spezifität	17
Interferenzkonkurrenz	20
Interferenz	20
Verschleppung/Kontamination	21
Bibliographie	22

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der Panther Fusion™ Bordetella Assay ist ein *In-Vitro*-Diagnostet zum schnellen qualitativen Nachweis und der Differenzierung von *Bordetella pertussis* (Bp) und *Bordetella parapertussis* (Bpp) mittels Multiplex-Echtzeit-PCR. Nukleinsäuren werden aus nasopharyngealen (NP) Abstrichproben, die von Personen mit Anzeichen und Symptomen einer Atemwegsinfektion entnommen werden, isoliert und gereinigt.

Dieser Assay ist zur Unterstützung der Differentialdiagnose von Infektionen mit *Bordetella pertussis* und *Bordetella parapertussis* beim Menschen gedacht. Negative Ergebnisse schließen Infektionen mit *Bordetella pertussis* und *Bordetella parapertussis* nicht aus und dürfen keinesfalls als alleinige Grundlage für eine Behandlung oder andere Managemententscheidungen verwendet werden. Dieser Assay ist für die Verwendung mit dem Panther Fusion System konzipiert.

Zusammenfassung und Testerklärung

Bordetella ist eine schwer anzüchtbare Gattung kleiner (0,2 - 0,7 µm), gramnegativer Kokken des Stammes Proteobakterien. Die Gattung *Bordetella* umfasst acht Arten, von denen vier bekanntermaßen Atemwegserkrankungen beim Menschen verursachen: *Bordetella bronchiseptica*, *Bordetella holmesii*, *Bordetella parapertussis* und *Bordetella pertussis*. *B. holmesii* produziert nicht die Virulenzfaktoren der drei anderen Arten.

B. pertussis gilt als rein menschlicher Krankheitserreger, während *B. parapertussis* bei Schafen und Menschen vorkommt. *B. bronchiseptica* kann bei vielen Tierarten Atemwegsinfektionen verursachen und selten auch beim Menschen. Eine zunehmende Anzahl keuchhustenähnlicher Fälle wird der sich als Krankheitserreger herauskristallisierenden Art *B. holmesii* zugeschrieben, aber derzeit ist nicht bekannt, ob diese Art für den Menschen wirklich pathogen ist^{1, 2}.

Das für den Keuchhusten verantwortliche Bakterium ist *B. pertussis*. Diese Atemwegsinfektion ist gekennzeichnet durch paroxysmalen Husten, Keuchen und posttussives Erbrechen. Es wird beim Husten und Niesen durch Tröpfcheninfektion verbreitet. Am schwersten ist die Erkrankung bei Säuglingen und Kleinkindern ausgeprägt, während Jugendliche und Erwachsene ein Erregerreservoir bilden. *B. pertussis* bleibt weltweit endemisch und neigt zu zyklischen Ausbrüchen, die alle drei bis fünf Jahre ihren Höhepunkt erreichen.

Die Prävalenz von *B. pertussis* und *B. parapertussis* zusammen liegt unter 2 % und hängt stark vom Alter des Patienten ab^{3, 4, 5}. Jedes Jahr kommt es weltweit zu schätzungsweise 16 Millionen Keuchhustenfällen und 195.000 damit einhergehenden Todesfällen⁶. In den Ländern Europas werden jährlich etwa 40.000 Fälle gemeldet.⁷

Verfahrensprinzipien

Der Panther Fusion Bordetella-Assay umfasst die folgenden Schritte: Probenlyse, Nukleinsäure-Capture und Elutionstransfer sowie Multiplex-Echtzeit-PCR, bei der die Analyten gleichzeitig amplifiziert, nachgewiesen und differenziert werden. Nukleinsäure-Capture und Elution erfolgen in einem einzigen Schlauch des Panther Fusion Systems. Das Eluat wird in das Reaktionsröhrchen des Panther Fusion Systems transferiert, das die Assay-Reagenzien enthält. Die Multiplex-Echtzeit-PCR für die eluierte Nukleinsäure wird dann auf dem Panther Fusion System durchgeführt.

Nukleinsäure-Capture- und Elutionsschritt: Vor der Verarbeitung und Testung auf dem Panther Fusion System werden die Proben in ein Probenlyseröhrchen mit Probentransportmedium (STM) transferiert, das die Bakterien lysiert, Zielnukleinsäure freisetzt und diese während der Lagerung vor dem Abbau schützt.

Jeder Probe wird interne Kontrolle-S (IC-S) zugesetzt, die über das Fusion Capture-Arbeitsreagenz-S (wFCR-S) kontrolliert. Das IC-S im Reagenz überwacht die Bearbeitung, Amplifikation und Detektion der Probe.

Capture-Oligonukleotide hybridisieren in der Probe mit der Nukleinsäure. Die hybridisierte Nukleinsäure wird dann mit magnetischen Partikeln von der Probe isoliert.

Irrelevante Bestandteile werden durch Waschschriffe aus dem Reaktionsröhrchen entfernt. Im Elutionsschritt wird gereinigte Nukleinsäure eluiert. Während des Nukleinsäure-Capture- und Elutionsschrittes wird die gesamte Nukleinsäure aus den Proben isoliert.

Elutionstransfer und Echtzeit-PCR: Während des Elutionstransferschrittes wird eluierte Nukleinsäure in ein Panther Fusion Reaktionsröhrchen transferiert, das bereits Öl und rekonstituierten Mastermix enthält.

Für Bp, Bpp und interne Kontrollziele erfolgt die Amplifikation mittels PCR, die DNA-Kopien der Zielsequenz erzeugt. Für alle Zielsequenzen amplifizieren spezifische Forward- und Reverseprimer die Targets, während mehrere Zielsequenzen durch Multiplex-PCR gleichzeitig nachgewiesen und unterschieden werden.

Das Panther Fusion System nutzt das Fluoreszenzsignal, um ein qualitatives Ergebnis für das Vorliegen bzw. Fehlen des Analyten zu erhalten.

Die Analyte und der für deren Nachweis verwendete Kanal im Panther Fusion System sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Analyt	Targetgen	Gerätekanal
<i>Bordetella pertussis</i>	IS 481	FAM
<i>Bordetella parapertussis</i>	IS 1001	HEX
Interne Kontrolle	Nicht zutreffend	RED677

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- A. Für *In-vitro*-Diagnosen.
- B. Lesen Sie die gesamte vorliegende Packungsbeilage und das *Panther Fusion System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das Panther Fusion System)*.
- C. Das Panther Fusion Verstärkungsreagenz-S (FER-S) ist ätzend, gesundheitsschädlich beim Verschlucken und verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
- D. Diese Verfahren sollten nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung dieses Assays und in der Handhabung potenziell infektiösen Materials entsprechend geschult sind. Bei Materialverschüttung sind die betroffenen Flächen unter Einhaltung entsprechender vor Ort gültiger Verfahren sofort zu desinfizieren.

- E. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assays sind die allgemein gültigen Vorsichtsmaßnahmen zu befolgen. Der Laborleiter muss die richtigen Handhabungs- und Entsorgungsverfahren festlegen. Es darf nur Personal, das in der Handhabung von infektiösen Materialien geschult wurde, gestattet werden, dieses Diagnoseverfahren auszuführen⁸.
- F. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.
- G. Beim Umgang mit Proben und Reagenzien ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel tragen. Nach dem Umgang mit Proben und Reagenzien die Hände gründlich waschen.
- H. Sämtliches Material, das mit den Proben und Reagenzien in Kontakt gekommen ist, gemäß den geltenden regionalen, nationalen und internationalen Vorschriften entsorgen.
- I. Die auf den Panther Fusion Probenlyseröhrchen angegebenen Verfallsdaten beziehen sich auf den Transfer der Probe in das Röhrchen und nicht auf die Testung der Probe. Die zu irgendeinem Zeitpunkt vor diesen Verfallsdaten entnommenen/transferierten Proben sind selbst dann für Tests gültig, wenn diese Verfallsdaten abgelaufen sind, vorausgesetzt die Proben wurden gemäß der entsprechenden Packungsbeilage transportiert oder gelagert.
- J. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerungsbedingungen aufrechterhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht untersucht.
- K. Kreuzkontamination während der Probenhandhabungsschritte vermeiden. Die Proben können hohe Konzentrationen von Bakterien oder anderen Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Wechseln Sie die Handschuhe, wenn diese mit Proben in Kontakt kommen.
- L. Reagenzien und Kontrollen nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- M. Die Assay-Bestandteile unter den empfohlenen Lagerungsbedingungen aufbewahren. Weitere Informationen finden Sie unter *Anforderungen an die Lagerung und Handhabung von Reagenzien* und *Panther Fusion System Testverfahren*.
- N. Assayreagenzien oder Flüssigkeiten nicht miteinander kombinieren. Reagenzien oder Flüssigkeiten nicht nachfüllen; das Panther Fusion System verifiziert den Füllstand der Reagenzien.
- O. Eine Kontamination der Reagenzien mit Mikroben und Ribonuklease vermeiden.
- P. Qualitätskontrollanforderungen sind in Übereinstimmung mit örtlichen, bundesstaatlichen und/oder bundesweiten regulatorischen oder Akkreditierungs-Anforderungen und den Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors zu erfüllen.
- Q. Die Assay-Kassette nicht verwenden, wenn der Aufbewahrungsbeutel nicht mehr verschlossen oder die Folie der Assay-Kassette beschädigt ist. Verständigen Sie den technischen Kundendienst von Hologic, wenn einer dieser Fälle eintritt.

- R. Verwenden Sie keine beschädigten oder auslaufenden Flüssigkeitspakete. In diesem Fall den technischen Kundendienst von Hologic kontaktieren.
- S. Die Assay-Kassetten vorsichtig behandeln. Die Assay-Kassetten nicht fallen lassen oder umdrehen. Vermeiden Sie eine längere Einstrahlung von Umgebungslicht.
- T. Einige Reagenzien, die mit dem Panther Fusion Bordetella Assay verwendet werden, sind mit Risiko- und Sicherheitssymbolen gekennzeichnet.

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

	Panther Fusion Oil <i>Polydimethylsiloxane 100%</i>
	Achtung H315 - Verursacht Hautreizungen H319 - Verursacht schwere Augenreizung
	Panther Fusion Enhancer Reagent-S <i>Lithiumhydroxid, Monohydrat 5-10%</i>
	Gefahr H302 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken H314 - Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden P260 - Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen P280 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen P303 + P361 + P353 - BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen P305 + P351 + P338 - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen P310 - Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen P280 - Augen-/Gesichtsschutz tragen

Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

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

Reagenz	Lagerung im ungeöffneten Zustand	Haltbarkeit im Gerät/ außerhalb des Systems ^a	Offene Lagerung
Panther Fusion Bordetella Assay-Kassette	2 °C bis 8 °C	60 Tage	2 °C bis 8 °C ^b
Panther Fusion Capture Reagenz-S (FCR-S)	15 °C bis 30 °C	30 Tage	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Verstärkungsreagenz-S (FER-S)	15 °C bis 30 °C	30 Tage	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion interne Kontrolle-S (IC-S)	2 °C bis 8 °C	(In wFCR-S)	Nicht zutreffend
Panther Fusion Elutionspuffer	15 °C bis 30 °C	60 Tage	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Öl	15 °C bis 30 °C	60 Tage	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Rekonstitutionspuffer I	15 °C bis 30 °C	60 Tage	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Bordetella Positivkontrolle	2 °C bis 8 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch	Nicht zutreffend - Einmalgebrauch
Panther Fusion Negativkontrolle	2 °C bis 8 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch	Nicht zutreffend - Einmalgebrauch

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

^a Die Stabilität im Gerät beginnt, wenn das Reagenz erstmalig in das Panther Fusion System für die Panther Fusion Bordetella Assay-Kassette, FCR-S, FER-S and IC-S eingebracht wird. Die Stabilität im Gerät für den Panther Fusion Rekonstitutionspuffer I, den Panther Fusion Elutionspuffer und das Panther Fusion Ölreagenz beginnt mit der ersten Verwendung der Reagenzpackung.

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

- B. wFCR-S und FER-S sind 60 Tage lang stabil, wenn sie verschlossen bei 15 °C bis 30 °C gelagert werden. Nicht gekühlt lagern.
- C. Nicht verwendete Reagenzien, die ihre Haltbarkeit im Gerät überschritten haben, sind zu entsorgen.
- D. Kontrollen sind bis zum auf dem jeweiligen Fläschchen angegebenen Datum stabil.
- E. Bei Handhabung und Lagerung der Reagenzien Kreuzkontamination vermeiden.
- F. **Reagenzien nicht einfrieren.**

Probenentnahme und -lagerung

Patientenproben - Vom Patienten entnommenes klinisches Material, das in ein passendes Transportsystem gefüllt wird. Für den Panther Fusion Bordetella Assay beinhaltet dies NP-Abstrichproben im Transportmedium.

Proben - Ist ein allgemeiner Begriff zur Beschreibung von Material zur Testung im Panther Fusion System einschließlich Patientenproben, in ein Panther Fusion System Probenlyseröhrchen umgefüllte Patientenproben und Kontrollen.

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

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

A. Zu den Patientenprobentypen zählen NP-Abstrichproben.

NP-Abstrichproben entsprechend der Standardtechnik mit einem Polyester-, Viskose- oder Nylon-bestückten Tupfer entnehmen. Bringen Sie die Abstrichprobe sofort in ein geeignetes Transportmittel ein.

Folgenden Arten von Transportmedium wurden für den Einsatz verifiziert.

- Copan ESwab Transportmedium und Universal Transportmedium (UTM)
- Remel MicroTest M4, M4RT, M5 und M6 Formulierungen
- BD Universal Viral Transport (UVT) Medium

B. Bearbeitung von Patientenproben

1. Die Patientenprobe* vor der Testung im Panther Fusion System in ein Panther Fusion Probenlyseröhrchen umfüllen.

- 500 µl der NP-Abstrichproben in ein Panther Fusion Probenlyseröhrchen umfüllen.

***Hinweis:** *Wenn Sie eine eingefrorene Patientenprobe testen, bringen Sie die Patientenprobe vor der Verarbeitung auf Raumtemperatur.*

2. Aufbewahrung von Patientenproben vor der Testung

a. Nach der Entnahme können die Proben bis zu 96 Stunden vor dem Transfer in das Panther Fusion Probenlyseröhrchen bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Verbleibende Probenvolumina können bei ≤-70 °C gelagert werden.

b. Patientenproben im Panther Fusion Probenlyseröhrchen können unter den folgenden Bedingungen gelagert werden:

- bis zu 6 Tage bei 15 °C bis 30 °C oder
- bis zu 3 Monate bei 2 °C bis 8 °C

Hinweis: *Es wird empfohlen, in Panther Fusion Probenlyseröhrchen umgefüllte Patientenproben verschlossen und stehend in einem Ständer aufzubewahren.*

C. Proben im Gerät des Panther Fusion Systems können für weitere Tests zu einem späteren Zeitpunkt archiviert werden.

D. Lagerung von Proben nach der Testung

1. Getestete Proben sollten im Ständer unter folgenden Bedingungen gelagert werden:
 - bis zu 6 Tage bei 15 °C bis 30 °C oder
 - bis zu 3 Monate bei 2 °C bis 8 °C
2. Die Proben sind mit einer neuen sauberen Plastikfolie oder einer Barrierefolie abzudecken.
3. Wenn getestete Proben gefroren oder versandt werden müssen, entfernen Sie den durchlässigen Deckel und setzen Sie einen neuen undurchlässigen Deckel auf die Probenröhrchen. Wenn Proben zum Test an eine andere Einrichtung versandt werden müssen, müssen die empfohlenen Temperaturen eingehalten werden. Vor der Entfernung des Deckels von bereits getesteten und wieder verschlossenen Proben müssen die Probentransportröhrchen 5 Minuten bei 420 RCF (relative Zentrifugalkraft) zentrifugiert werden, um die gesamte Flüssigkeit zum Boden des Röhrchens zu bringen. Spritzer und Kreuzkontamination vermeiden.

Transport von Patientenproben

Halten Sie die Bedingungen für die Probenlagerung wie unter *Probenahme und -lagerung* beschrieben aufrecht.

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

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

Assay-Verpackung

Komponenten ^a	Kat.- Nr.	Lagerung
Panther Fusion Bordetella Assay-Kassetten, 96 Tests Panther Fusion Bordetella Assay-Kassette, 12 Tests, 8 pro Box	PRD-04868	2 °C bis 8 °C
Panther Fusion Bordetella Assay-Kontrollen Panther Fusion Bordetella Röhrchen Positivkontrolle, 5 pro Box Panther Fusion Röhrchen Negativkontrolle, 5 pro Box	PRD-04869	2 °C bis 8 °C
Panther Fusion interne Kontrolle-S 960 Tests Panther Fusion interne Kontrolle-S Röhrchen, 4 pro Box	PRD-04332	2 °C bis 8 °C
Panther Fusion Extraktionsreagenz-S 960 Tests Panther Fusion-Capture-Reagenz-S Flasche, 240 Tests, 4 pro Box Panther Fusion-Enhancer-Reagenz-S Flasche, 240 Tests, 4 pro Box	PRD-04331	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Elutionspuffer 2400 Tests Panther Fusion Elutionspuffer-Packung, 1200 Tests, 2 pro Box	PRD-04334	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Rekonstitutionspuffer I 1920 Tests Panther Fusion Rekonstitutionspuffer I Packung, 960 Tests, 2 pro Box	PRD-04333	15 °C bis 30 °C
Panther Fusion Ölreagenz 1920 Tests Panther Fusion Ölreagenz Packung, 960 Tests, 2 pro Box	PRD-04335	15 °C bis 30 °C

^a Die Komponenten können auch in folgenden Paketen bestellt werden:

Panther Fusion Universalflüssigkeiten-Kit, PRD-04430, enthält je 1 Panther Fusion Öl- und Panther Fusion Elutionspuffer.
Panther Fusion Assay-Flüssigkeiten I-S, PRD-04431, enthält 2 Panther Fusion Extraktionsreagenzien-S, 2 Panther Fusion interne Kontrolle-S und 1 Panther Fusion Rekonstitutionspuffer I.

Einzel verpackte Artikel

Elemente	Kat.- Nr.
Panther Fusion Probenlyseröhrchen, 100 pro Beutel	PRD-04339

Erforderliche und nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

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

Material	Kat.- Nr.
Panther System	303095
Panther Fusion Modul	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Aptima Assayflüssigkeitskit (Aptima Waschlösung, Aptima Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima Ölreagenz)	303014 (1000 Tests)
Multi-Röhrchen-Einheiten (MTUs)	104772-02
Panther Entsorgungsbeutel-Kit	902731
Panther Abfallabdeckung	504405
oder Panther System Durchlaufkit für Real-Time-Assays enthält MTUs, Entsorgungsbeutel, Abfallabdeckungen und Assayflüssigkeiten	PRD-03455 (5000 Tests)
oder Panther System-Durchlaufkit (wenn TMA-Assays gleichzeitig mit Real-Time-TMA-Assays laufen) enthält MTUs, Entsorgungsbeutel, Abfallabdeckungen, Auto Detect ^a und Assay	303096 (5000 Tests)
Panther Fusion-Röhrchentablets, 1008 Tests, 18 Tablette pro Box	PRD-04000
Liquid Handling (LiHa) Einwegspitzen, 1000 µl	10612513 (Tecan)
Aptima durchstechbare Deckel (optional)	105668
Nicht durchstechbare Ersatzdeckel (optional)	103036A
Ersatzdeckel für Extraktionsreagenzflasche	CL0040
P1000 Pipette und Spitzen mit hydrophoben Filtern	–
Chlorbleiche, 5 % bis 7 % (0,7 M bis 1,0 M) Natriumhypochloritlösung	–
Ungepuderte Einweghandschuhe	–

^a Nur für Panther Aptima TMA Assays erforderlich.

Testverfahren mit dem Panther Fusion System

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

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

1. Die Arbeitsflächen mit einer 2,5 %igen bis 3,5 %igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung abwischen. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken. Spülen Sie diese anschließend mit entionisiertem Wasser ab. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen. Die Labortischoberflächen mit sauberen, saugfähigen Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite abdecken.
2. Eine eigene Arbeitsfläche reinigen, auf der die Proben mit dem in Schritt A.1 beschriebenen Verfahren vorbereitet werden.

B. Reagenzvorbereitung

1. Die gelagerten Flaschen mit IC-S, FCR-S und FER-S herausnehmen.
2. Die Flaschen mit IC-S, FCR-S und FER-S öffnen und die Kappen entsorgen. Die TCR-Tür am oberen Fach des Panther Fusion Systems öffnen.
3. Die Flaschen mit IC-S, FCR-S und FER-S in die entsprechenden Positionen des TCR-Karussells stellen.
4. Die TCR-Tür schließen.

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

C. Probenhandhabung

Hinweis: Bevor Sie die Patientenproben in das Panther Fusion System laden, bereiten Sie die Patientenproben entsprechend den Probenhandhabungsanweisungen im Abschnitt Probenentnahme und -lagerung vor.

1. **Proben nicht mit dem Vortex-Mischer mischen.**
2. Prüfen Sie die Probenröhrchen vor dem Laden in den Ständer. Wenn ein Probenröhrchen Blasen enthält oder ein geringeres Volumen als üblicherweise besitzt, klopfen Sie leicht auf den Boden des Röhrchens, damit der Inhalt auf den Boden sinkt.

Hinweis: Um Verarbeitungsfehler zu vermeiden, ist sicherzustellen, dass dem Panther Fusion Probenlyseröhrchen das entsprechende Probenvolumen hinzugefügt wird. Wenn dem Panther Fusion Probenlyseröhrchen 500 µl der NP-Abstrichprobe hinzugefügt werden, reicht das Volumen für die Durchführung von 3 Nukleinsäureextraktionen.

D. Vorbereitung des Systems

Informationen über die Einrichtung des Panther Fusion Systems einschließlich Laden der Proben, Assay-Kassetten und Universalflüssigkeiten finden Sie in der *Bedienungsanleitung für das Panther Fusion System*.

Verfahrenshinweise

A. Kontrollen

1. Die Panther Fusion Bordetella Positivkontrolle und die Panther Fusion Negativkontrolle können in jede beliebige Ständerposition in jeder Bahn im Probenfach des Panther Fusion Systems geladen werden.
2. Nachdem die Kontrollröhrchen pipettiert und für den Panther Fusion Bordetella Assay vorbereitet wurden, sind sie für bis zu 30 Tage aktiv (von einem Administrator konfigurierte Kontrollfrequenz), es sei denn, die Kontrollergebnisse sind ungültig oder eine neue Assay-Kassettencharge wird geladen.
3. Jedes Kontrollröhrchen kann einmal getestet werden.
4. Die Pipettierung der Patientenproben beginnt, sobald eine der beiden folgenden Bedingungen erfüllt ist:
 - a. Gültige Ergebnisse für die Kontrollen werden auf dem System registriert.
 - b. Das System behandelt derzeit die Assaykontrollen.

Qualitätskontrolle

Ein Durchlauf- oder Probenergebnis kann vom Panther Fusion System annulliert werden, wenn während der Durchführung des Assays Probleme auftreten. Proben mit ungültigen Ergebnissen müssen erneut getestet werden.

Negativ- und Positivkontrollen

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss ein Satz von Assay-Kontrollen getestet werden. Ein Replikat der negativen Assaykontrolle und der positiven Assaykontrolle müssen jedes Mal getestet werden, wenn eine neue Assay-Kassettencharge in das Panther Fusion System geladen wird oder wenn das aktuelle Set gültiger Kontrollen für eine aktive Kassettencharge das Verfallsdatum überschritten hat.

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

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

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

Wenn eine der Assaykontrollen die Gültigkeitsprüfungen nicht besteht, annulliert das Panther Fusion System automatisch die betroffenen Proben, und es ist die Testung eines neuen Assaykontrollsets erforderlich, bevor neue Probendurchläufe begonnen werden.

Interne Kontrolle

Während des Extraktionsprozesses wird jeder Probe eine interne Kontrolle hinzugefügt. Während der Verarbeitung werden die Annahmekriterien der internen Kontrolle von der Software auf dem Panther Fusion System automatisch verifiziert. Die Detektion der internen Kontrolle ist für positive Bp- und/oder Bpp-Proben nicht erforderlich. Die interne Kontrolle muss in allen Proben erkannt werden, die negativ für Bp- und Bpp-Targets sind; Proben, die diese Kriterien nicht erfüllen, werden als ungültig gemeldet. Jede Probe mit einem ungültigen Ergebnis muss erneut getestet werden.

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

Interpretation der Ergebnisse

Das Panther Fusion System bestimmt automatisch die Testergebnisse für Proben und Kontrollen. Die Ergebnisse des Bp- und Bpp-Nachweises werden separat ausgewiesen. Testergebnisse können negativ, positiv oder ungültig sein.

Tabelle 1 zeigt die möglichen Ergebnisse, die in einem gültigen Durchlauf mit den Interpretationen des Ergebnisses angegeben werden.

Tabelle 1: Ergebnisinterpretation

Pertussis Ergebnis	Parapertussis Ergebnis	IC Ergebnis	Auswertung
Neg.	Neg.	Gültig	Bp und Bpp nicht nachgewiesen.
POS.	Neg.	Gültig	Bp nachgewiesen. Bpp nicht nachgewiesen.
Neg.	POS.	Gültig	Bpp nachgewiesen. Bp nicht nachgewiesen.
POS.	POS.	Gültig	Bp und Bpp nachgewiesen. Zur Bestätigung des Ergebnisses erneut testen.
Ungültig	Ungültig	Ungültig	Ungültig. Bei der Erzeugung des Ergebnisses ist ein Fehler aufgetreten; Probe erneut testen.

IC = interne Kontrolle, Neg. = negativ, POS. = positiv.

Hinweis: Positive Ergebnisse (POS.) werden mit zugehörigen Zyklusschwellenwerten (Ct) Werten angegeben.

Einschränkungen

- A. Dieser Test darf nur von Mitarbeitern durchgeführt werden, die in der Durchführung des Tests unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung dieser Anweisungen kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.
- B. Zuverlässige Ergebnisse hängen von der korrekten Entnahme, dem Transport, der Lagerung und der Verarbeitung der Patientenproben ab.
- C. Eine Kontamination ist durch Einhaltung der guten Laborpraxis und der in der vorliegenden Packungsbeilage angegebenen Vorgehensweise zu vermeiden.
- D. Negative Ergebnisse schließen Infektionen mit *Bordetella pertussis* und *Bordetella parapertussis* nicht aus und dürfen keinesfalls als alleinige Grundlage für eine Behandlung oder andere Managemententscheidungen verwendet werden.
- E. Ein positives Ergebnis zeigt die Detektion von Nukleinsäure der relevanten Bakterien an. Die Nukleinsäure kann auch dann persistieren, wenn die Bakterien nicht mehr lebensfähig sind.
- F. Der Panther Fusion Bordetella Assay unterscheidet keine anderen *Bordetella*-Arten als *B. pertussis* und *B. parapertussis* (d. h. *B. holmesii*, *B. bronchiseptica*, *B. bronchialis*). Um in Absprache mit den örtlichen Gesundheitsämtern bestimmte *Bordetella*-Arten oder -Stämme zu unterscheiden, ist ein zusätzlicher Testschritt erforderlich.

Panther Fusion Bordetella Assay-Leistungsdaten

Reproduzierbarkeit

Die Präzision des Panther Fusion Bordetella Assays wurde mit einem Panel aus 5 Elementen überprüft. Das Panel wurde von drei Anwendern in zwei separaten Durchläufen pro Tag mit drei Reagenzchargen auf drei Panther Fusion Systemen über einem Zeitraum von 12 nicht aufeinanderfolgenden Tagen getestet.

Die Panelproben sind in Tabelle 2 beschrieben, neben einer Zusammenfassung der Übereinstimmung der erwarteten Ergebnisse für jedes Target. Tabelle 3 zeigt die Durchschnitts- und Schwankungsanalyse zwischen Geräten, zwischen Reagenzchargen, zwischen Anwendern, zwischen Tagen, zwischen Durchläufen und innerhalb von Durchläufen sowie insgesamt für Ct.

Tabelle 2: Panel-Beschreibung und %-Übereinstimmung

Target	Panelprobe	% positiv	% Gesamtübereinstimmung (95 % CI)
<i>B. pertussis</i>	Bp 1-2X LoD	100 (180/180)	100 (97,9 - 100 %)
	Bp 5X LoD	100 (180/180)	100 (97,9 - 100 %)
	Negativ	0 (0/180)	100 (97,9 - 100 %)
<i>B. parapertussis</i>	Bpp 1-2X LoD	100 (180/180)	100 (97,9 - 100 %)
	Bpp 5X LoD	100 (180/180)	100 (97,9 - 100 %)
	Negativ	0 (0/180)	100 (97,9 - 100 %)

CI = Vertrauensintervall, LoD = Nachweisgrenze.

Tabelle 3: Signalschwankung

Target	Panelprobe	Mittlerer Ct	Zwischen Geräten		Zwischen Reagenzchargen		Zwischen Anwendern		Zwischen Tagen		Zwischen Läufen		Innerhalb eines Laufes		Gesamt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Bp	Bp 1-2X LoD	36,9	0,3	0,9	0,3	0,9	0,2	0,5	0,2	0,5	0,6	1,6	0,8	2,2	1,0	2,6
	Bp 5X LoD	35,5	0,3	0,9	0,3	0,9	0,2	0,7	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,3	0,6	1,7
Bpp	Bpp 1-2X LoD	38,1	0,4	1,0	0,4	1,0	0,2	0,6	0,2	0,6	0,7	1,8	0,7	1,7	0,9	2,4
	Bpp 5X LoD	37,3	0,3	0,8	0,3	0,8	0,2	0,5	0,2	0,5	0,6	1,5	0,6	1,6	0,8	2,2
IC	Negativ	30,5	0,2	0,6	0,2	0,6	0,2	0,8	0,1	0,3	0,3	1,1	0,2	0,8	0,4	1,3

Ct = Zyklusschwellenwert, VK = Variationskoeffizient, IC = interne Kontrolle; LoD = Nachweisgrenze, SD = Standardabweichung.

Klinische Leistungsdaten

Diese Studie wurde zum Nachweis der klinischen Leistungsfähigkeit des Panther Fusion Bordetella Assays durchgeführt. Es wurden von symptomatischen Patienten entnommene NP-Abstrichproben für eine retrospektive Auswertung verwendet. Jede NP-Abstrichprobe wurde in ein Panther Fusion Probenlyseröhrchen mit Probentransportmedium (STM) verdünnt. Es wurde ein einzelnes Replikat jeder Probe mit dem Panther Fusion Bordetella Assay getestet. Das Ergebnis wurde mit dem Ergebnis eines CE-markierten Nukleinsäuretests (NAT) verglichen. Es wurden eine positive und eine negative prozentuale Übereinstimmung (PPA bzw. NPA) für die Detektion von Bp- und Bpp-Nukleinsäure bestimmt.

Insgesamt 290 NP-Proben, darunter 50 konstruierte Bpp-positive Proben, wurden mit dem Panther Fusion Bordetella Assay und dem Diagenode Diagnostics R-DiaBorM™ Assay getestet. PPA und NPA zur Detektion von Bp und Bpp sind in Tabelle 4 bzw. Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 4: Leistungsdaten des Bp-Assays im Vergleich zum Diagenode Diagnostics R-DiaBorM™ Assay

Probenart	N	Bp+		Bp-		PPA (%) 95 % CI	NPA (%) 95 % CI	Übereinstimmung insgesamt (%) 95 % CI
		Fusion Bp +	Fusion Bp -	Fusion Bp +	Fusion Bp -			
Retrospektiv NP-Abstrich	290	72	0	7	211	100 94,9 - 100 %	96,8 93,5 - 98,4 %	97,6 95,1 - 98,8 %

CI = Vertrauensintervall, NPA = negative prozentuale Übereinstimmung, PPA = positive prozentuale Übereinstimmung.

Tabelle 5: Leistungsdaten des Bpp-Assays im Vergleich zum Diagenode Diagnostics R-DiaBorM™ Assay

Probenart	N	Bpp+		Bpp-		PPA (%) 95 % CI	NPA (%) 95 % CI	Übereinstimmung insgesamt (%) 95 % CI
		Fusion Bpp +	Fusion Bpp -	Fusion Bpp +	Fusion Bpp -			
Retrospektiv NP-Abstrich	140	18	0 ^a	1	121	100 82,4 - 100 %	99,2 95,5 - 99,9 %	99,3 96,1 - 99,9 %
Konstruierter NP-Abstrich	150 ^b	50	0	0	100	100 92,9 - 100 %	100 96,3 - 100 %	100 97,5 - 100 %
Gesamt	290	68	0	1	221	100 94,7 - 100 %	99,6 97,5 - 99,9 %	99,7 98,1 - 99,9 %

CI = Vertrauensintervall, NPA = negative prozentuale Übereinstimmung, PPA = positive prozentuale Übereinstimmung.

^a Zwei Proben zeigten nach Testung mit dem R-DiaBorM™ Assay einen sich spät herauskristallisierenden Ct-Wert mit niedrigen und flachen Fluoreszenzkurven. Gemäß Protokoll wurden diese Proben erneut getestet und führten zu einem negativen Ergebnis.

^b Um das Bias zu minimieren, wurden 50 konstruierte Proben mit klinisch relevanten Konzentrationen des Bpp-Targets (zwischen 3X und 100X LoD) versetzt und zusammen mit einer gleichen Anzahl einzigartiger negativer Proben und 50 retrospektiven Bp-positiven/Bpp-negativen Proben verblindet und randomisiert getestet.

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität (Nachweisgrenze – LoD) des Panther Fusion Bordetella Assays wurde durch die Untersuchung serieller Verdünnungen von quantifizierten Kulturen (KBE/ml) von *B. pertussis* und *B. parapertussis* bestimmt, die negativen klinischen NP-Proben getrennt zugesetzt wurden. Zwanzig Replikate jeder Verdünnung wurden mit je drei Reagenzchargen getestet, was je Verdünnung insgesamt 60 Replikate ergab. Wie aus Tabelle 6 ersichtlich wurde für jede Reagenzcharge mit der auf deren ungünstigsten Schätzwert beruhenden, genannten Nachweisgrenze (LoD) von 95 % eine Probit-Analyse durchgeführt. Target-spezifische LoD-Konzentrationen wurden durch Testung von weiteren 20 Replikaten mit einer Reagenzcharge verifiziert.

Tabelle 6: Nachweisgrenze für *B. pertussis* und *B. parapertussis*

Target	LoD-Konzentration (95 % CI)
<i>B. pertussis</i>	20,1 KBE/ml (13,6 - 42,1 KBE/ml)
<i>B. parapertussis</i>	162,5 KBE/ml (92,9 - 441,4 KBE/ml)

CI = Vertrauensintervall, KBE = koloniebildende Einheiten, LoD = Nachweisgrenze.

Reaktivität

Die Reaktivität des Panther Fusion Bordetella Assays wurde durch die Untersuchung verschiedener Isolate von *B. pertussis* und *B. parapertussis* bewertet. Wie in Tabelle 7 dargestellt wurden *Bordetella*-Isolate in Dreierreihen mit einer Reagenzcharge getestet.

Tabelle 7: Ergebnisse der Reaktivität

Target	Beschreibung	Konzentration	Bp	Bpp
<i>B. pertussis</i>	LMG14454	25 KBE/ml	+	-
	LMG14455	25 KBE/ml	+	-
	LMG15140	25 KBE/ml	+	-
	LMG15585	25 KBE/ml	+	-
<i>B. parapertussis</i>	LMG14449	202 KBE/ml	-	+
	LMG1833	202 KBE/ml	-	+
	LMG1818	202 KBE/ml	-	+

KBE = koloniebildende Einheiten.

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des Panther Fusion Bordetella Assays wurde mit insgesamt 68 Mikroorganismen bewertet (Tabelle 8), bestehend aus 25 Viren- und 42 Bakterienstämmen sowie 1 Hefestamm, die häufigen, im Nasopharynxbereich vorkommenden Atemwegserregern entsprechen. Sofern nicht anders vermerkt wurden Bakterien und Hefe in Konzentrationen von 10^6 KBE/ml, CCU/ml bzw. IFU/ml getestet. Sofern nicht anders vermerkt wurden die Viren in Konzentrationen von 10^5 bis 10^6 TCID₅₀/ml bzw. CEID₅₀/ml getestet. Die Organismen wurden mit und ohne Analyten getestet, denen *B. pertussis*- und *B. parapertussis* in einer Konzentration von 3X LoD zugesetzt worden war. Es wurde festgestellt, dass keine der getesteten *Bordetella*-Erreger die Leistung und analytische Spezifität des Panther Fusion Bordetella Assays beeinflusste.

Tabelle 8: Spezifitätsergebnisse

Organismus	Konzentration	Bp	Bpp
<i>Achromobacter denitrificans</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
Adenovirus 4	1x10 ⁵ TCID50/ml	-	-
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Bordetella avium</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Bordetella bronchialis</i> ^a	1x10 ⁶ KBE/ml	+	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Bordetella hinzii</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Bordetella holmesii</i> ^a	1x10 ⁶ KBE/ml	+	-
<i>Bordetella petrii</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Bordetella trematum</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Burkholderia cepacia</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1x10 ⁶ IFU/ml	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁶ Kopien/ml ^b	-	-
Coronavirus OC43	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1x10 ⁴ KBE/ml	-	-
Coxsackie-Virus B4	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Coxsackie-Virus B5	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Zytomegalievirus AD-169	1x10 ⁵ TCID50/ml	-	-
Echovirus 11	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Echovirus 6	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Echovirus 7	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Echovirus 9	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
Enterovirus 71	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Epstein-Barr-Virus B95-8	1X10 ⁶ Kopien/ml	-	-
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	1x10 ⁴ KBE/ml	-	-
<i>Haemophilus influenzae</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1x10 ⁵ KBE/ml	-	-
Herpes-simplex-Virus 1 (HSV-1)	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Herpes-simplex-Virus 2 (HSV-2)	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Humanes Rhinovirus A1	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-

Tabelle 8: Spezifitätsergebnisse (Fortsetzung)

Organismus	Konzentration	Bp	Bpp
Influenza A Virus New Jersey/8/76	1x10 ⁶ CEID50/ml	-	-
Influenza B/Florida/04/2006	1x10 ⁵ TCID50/ml	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Legionella longbeachae</i>	1x10 ⁴ KBE/ml	-	-
<i>Legionella micdadei</i>	1x10 ⁵ KBE/ml	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	1x10 ⁴ KBE/ml	-	-
Masernvirus	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Metapneumovirus 27 Typ A2	1x10 ⁵ TCID50/ml	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
Mumpsvirus	1x10 ⁵ TCID50/ml	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1x10 ⁶ Kopien/ml ^b	-	-
<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ³ CCU/ml	-	-
<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CCU/ml	-	-
<i>Neisseria elongata</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Neisseria mucosa</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
Parainfluenza Typ 1	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Parainfluenza Typ 2	1x10 ⁶ TCID50/ml	-	-
Parainfluenza Typ 3	1x10 ⁵ TCID50/ml	-	-
Parainfluenza Typ 4B	1x10 ⁵ TCID50/ml	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
Respiratorisches Syncytial-Virus A	1x10 ⁵ TCID50/ml	-	-
Respiratorisches Syncytial-Virus B	1x10 ⁴ TCID50/ml	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ CCU/ml	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	-	-

CCU = color change unit, CEID = chicken embryo infectious dose, KBE = koloniebildende Einheiten, IFU = Infektionseinheiten, TCID = tissue culture infectious dose.

^a *Bordetella bronchialis* und *Bordetella holmesii* enthalten die IS 481-Targetsequenz.

^b Mikroorganismen, die als extrahierte Nukleinsäure gewertet wurden.

Interferenzkonkurrenz

Die Interferenzkonkurrenz des Panther Fusion Bordetella Assays wurde mit einer klinischen Ersatzmatrix mit beiden Targetbakterien in zwei verschiedenen Konzentrationen bewertet. Eine Targetkonzentration lag nahe der Nachweisgrenze (oberes CI des LoD), während die andere Targetkonzentration hoch war (10.000X LoD). Das Vorliegen der beiden Bakterien in unterschiedlichen Konzentrationen in einer einzigen Probe hatte keinen Einfluss auf den Nachweis (100 %iger Nachweis für beide Targets).

Tabelle 9: Interferenzkonkurrenz

Bedingung	Target 1		Target 2		Bp- Ergebnis	Bpp- Ergebnis
	Beschreibung	Konzentration	Beschreibung	Konzentration		
1	Bp	Oberer LoD ^a	Bpp	10.000X LoD	+	+
2	Bpp	Oberer LoD ^a	Bp	10.000X LoD	+	+

LoD = Nachweisgrenze.

^a Oberes CI der LoD ist in Tabelle 6 dargestellt.

Interferenz

Muzin, Vollblut und andere potenziell störende Substanzen, die in den Proben vorhanden sein können, wurden im Panther Fusion Bordetella Assay untersucht. Klinisch relevante Mengen der potenziell störenden Substanzen wurden der klinischen Ersatzmatrix zugegeben und mit oder ohne Bp und Bpp in ihrer jeweiligen 3X LoD-Konzentration getestet. Wie in Tabelle 10 dargestellt umfassten die Stoffe Nasensprays (flüssig und pulverförmig), Kautabletten, Lutschtabletten sowie injizierbare sowie endogene Substanzen.

Es wurde festgestellt, dass keine der getesteten Substanzen die Leistung des Panther Fusion Bordetella Assays beeinflusst.

Tabelle 10: Substanzen mit möglicher beeinträchtigender Wirkung

Typ	Name der Substanz	Wirkstoff(e)	Konzentration
Endogen	Muzin	Gereinigtes Muzinprotein	60 µg/ml
	Menschliches Blut	Blut	2 % V/V
Nasensprays oder -tropfen	Neo-Syneprine®	Phenylephrin	15 % V/V
	Anefrin	Oxymetazolin	15 % V/V
	Kochsalzlösung	Natriumchlorid	15 % V/V
Nasale Corticosteroide	QVAR®, Beconase AQ	Beclomethason	5 % V/V
Nasengel	Zicam® (Erleichterung bei Allergien)	Histamindihydrochlorid, <i>Luffa operculata</i> , <i>Galphimia glauca</i> , Schwefel	5 % V/V
Lutschtabletten	Chloraseptische Lutschtabletten	Benzocain	4,14 mg/ml
		Menthol	6,9 mg/ml
Virostatika	Relenza®	Zanamivir	3,3 mg/ml
	TamiFlu®	Oseltamivir	2,5 % W/V
	Rebitol	Ribavirin	2 % W/V
Antibiotikum, Nasensalbe	Bactroban-Creme	Mupirocin	6,6 mg/ml
Antibiotikum, systemisch	Tobramycin	Tobramycin	4,4 µg/ml

V/V = Volumen/Volumen, W/V = Gewicht/Volumen.

Verschleppung/Kontamination

Die Studie zur Verschleppung/Kreuzkontamination wurde mit negativen Proben durchgeführt, die abwechselnd zwischen hoch positiven Proben platziert und getestet wurden. Hochpositive Proben wurden durch Zusatz von 10^6 KBE/ml (entspricht $> 6.000X$ LoD) der Bp- und Bpp-Stämme in der Surrogatmatrix hergestellt. Es wurden drei separate Durchläufe mit 30 negativen Proben und 30 positiven Proben, die im Schachbrettmuster angeordnet waren, mit drei verschiedenen Geräten getestet, was insgesamt 270 positive und 270 negative Proben ergab. Die Verschleppungsrate betrug 0,0 %.

Bibliographie

1. Guiso N., Wirsing von König C.H., Forsyth K., Tan T., Plotkin S.A. 2011. The Global Pertussis Initiative: report from a round table meeting to discuss the epidemiology and detection of pertussis, Paris, Frankreich, 11.-12. Januar 2010. *Vaccine*. 29(6):1115-1121.
2. Pittet L.F., Emonet S., Schrenzel J., Siegrist C.A., Posfay-Barbe K.M. 2014. *Bordetella holmesii*: an under-recognised *Bordetella* species. *Lancet Infect Dis*. 14(6):510-519.
3. Van der Zee A, Mooi F., Van Embden J., Musser J. 1997. Molecular evolution and host adaptation of *Bordetella spp.*: phylogenetic analysis using multilocus enzyme electrophoresis and typing with three insertion sequences. *J Bacteriol*. 179(21):6609-6617.
4. Diavatopoulos D.A., Cummings C.A., Schouls L.M. *et al.* 2005. *Bordetella pertussis*, the causative agent of whooping cough, evolved from a distinct, human-associated lineage of *B. bronchiseptica*. *PLoS Pathog*. 1(4):e45.
5. Walsh P., Overmeyer C., Kimmel L. *et al.* 2008. Prevalence of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* in Samples Submitted for RSV Screening. *West J Emerg. Med*. 9(3):135-140.
6. Kilgore PE, Salim A.M., Zervos M.J., Schmitt H.J. 2016. Pertussis: Microbiology, Disease, Treatment, and Prevention. *Clin Microbiol Rev*. 29(3):449-486. <https://doi.org/10.1128/CMR.00083-15>.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. Krankheitsdaten aus dem ECDC-Überwachungsatlas für Keuchhusten. 2018. <https://ecdc.europa.eu/en/pertussis/surveillance-and-disease-data/atlas>. Daten veröffentlicht 2015.
8. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2017. Dokument M29: Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI Website. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>.



Diagenode sa
3, Rue du Bois Saint Jean
B 4102 Seraing, Belgien

Kundendienst: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Technischer
Kundendienst: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Weitere Kontaktinformationen finden Sie unter www.hologic.com.

Hologic und Panther Fusion sind Marken und/oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern.

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

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

©2018 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

AW-18637-801 Rev. 001
2018-9