

BKV Quant-analys (Panther Fusion™)

För *in vitro*-diagnostisk användning

Endast för USA-export

INNEHÅLL

Allmän information	2
Avsedd användning	2
Sammanfattning och förklaring av testet	2
Metodprinciper	2
Varningar och försiktighetsåtgärder	4
Förvaring och hantering av reagens	6
Insamling, bearbetning och förvaring av provmaterial	7
Prover i Panther Fusion-systemet	8
Transport av provmaterial	8
Panther Fusion-systemet	9
Medföljande reagens och material	9
Nödvändiga material som införskaffas separat	10
Tillvalsmaterial	11
Testmetod för Panther Fusion-systemet	11
Metodanmärkingar	16
Kvalitetskontroll	17
Analyskalibrering	17
Negativa och positiva kontroller	17
Intern kontroll	17
Tolkning av resultat	18
Begränsningar	19
Resultat	20
Detekteringsgräns vid användning av WHO:s första internationella standard	20
Linjärt intervall	21
Nedre kvantifieringsgräns enligt WHO:s första internationella standard	22
Bekräftelse av nedre kvantifieringsgräns för BKV-genotyper	24
Spårbarhet till WHO:s första internationella standard	25
Precision inom laboratoriet	26
Potentiellt interfererande substanser	27
Analytisk specificitet	29
Metodkorrelation	30
Korskontamination	31
Referenser	31
Kontaktinformation	32

Allmän information

Avsedd användning

Panther Fusion™ BKV Quant-analys är ett helautomatiserat nukleinsyraamplifieringstest för realtids-PCR (RT-PCR) *in vitro* för kvantifiering av humant BK-virus (BKV) DNA i human plasma och urinprover.

Panther Fusion BKV Quant-analys är avsedd att användas som stöd för diagnos och stöd för behandling av patienter med transplanterat av solida organ eller blodstamceller.

Panther Fusion BKV Quant-analys är inte avsedd att användas som screeninganalys för eventuell BKV-förekomst i plasma eller urin. Denna analys är avsedd för användning i Panther Fusion-systemet.

Sammanfattning och förklaring av testet

BKV är ett mycket utbredd litet ej höljeförsett virus med en sluten cirkulär dubbelsträngad DNA-genom. BKV är ett humant polyomavirus som tillhör familjen papovaviridae.

Den primära exponeringen för BKV sker under barndomen, vilket leder till att 80–90 % av vuxna har utvecklat antikroppar mot BKV. Majoriteten av primära BKV-infektioner är asymtomatiska eller minimalt symtomatiska. Efter primärinfektion tros viruset förbli latent i urinvägarna utan sjukdomsmanifestation hos immunkompetenta individer.¹

Viral reaktivering förekommer hos personer med nedsatt immunförsvar och är vanligt förekommande hos njurtransplantationspatienter och patienter med hematopoetisk stamcellstransplantation (HSCT). Hos njurtransplanterade patienter är BKV-reaktivering förknippad med nefropati (BKVN) och ureterstenos, BKVN förekommer hos cirka 5 % av njurtransplanterade patienter inom ett år efter transplantationen. BKV-reaktivering är viktig för HSCT-mottagare med sent uppkommen hemorragisk cystit hos 6–29 % av patienterna inom två månader efter transplantationen.²

Kvantitativa nukleinsyraamplifieringstester från plasma- eller urinprovmaterial är en viktig laboriemarkör för diagnos och övervakning av BKV-infektion hos transplanterad mottagare. Nya riktlinjer rekommenderar att njurtransplanterade patienter regelbundet undersöks för BKV-DNA-nivåer i plasma efter transplantationen för att identifiera de patienter som anses vara aktuella för förebyggande behandling av nefropati. Risken för att utveckla BKVN ökar när höga nivåer av BKV-DNA observeras i plasma eller urin, men kan förekomma hos patienter med lägre BKV-nivåer.^{3,4}

Metodprinciper

Panther Fusion-systemet automatiserar fullständigt provmaterialbearbetningen (inklusive cellysning, nukleinsyrainfångning, amplifiering och detektering) för Panther Fusion BKV Quant-analysen. Panther Fusion BKV Quant-analysen är inriktad på den väl konserverade VP2-genen för att säkerställa en exakt kvantifiering av BKV-DNA. Analysen uppfyller WHO:s första internationella standard (NIBSC-kod: 14/212) för BKV.⁵

Provbearbetning och nukleinsyrainfångning: En intern kontroll (IC-B) läggs automatiskt till varje provmaterial via fungerande Fusion infångningsreagens-B (wFCR-B) för att övervaka interferens under provmaterialbearbetning, amplifiering och detektering som orsakas av reagensfel eller hämmande ämnen. Provmaterial tillsätts först till Fusion infångningsreagens-B (FCR-B) och Fusion enhancerreagens-B (FER-B) för att frigöra nukleinsyra för hybridisering till magnetpartiklar. Sedan separeras de infångade partiklarna från restprovsmatris i ett magnetfält genom en serie tvättsteg med ett mildt rengöringsmedel. Sedan elueras den infångade nukleinsyran från magnetpartiklarna med en reagens av låg jonstyrka (Panther Fusion elueringsbuffert).

Obs! Panther Fusion-systemet tillsätter IC-B i FCR-B. När IC-B har tillsatts i FCR-B kallas det för wFCR-B.

PCR-amplifiering och fluorescensdetektering: En enhetsdos av lyofiliserad PCR Master Mix rekonstitueras med Panther Fusion rekonstitutionsbuffert I och kombineras sedan med den eluerade nukleinsyran i en reaktionsampull. Panther Fusion oljereagens tillsätts för att förhindra avdunstning under PCR-reaktionen. PCR-baserad målamplicering sker sedan med målspecifika framvända och omvända primrar och genererar en fluorescenssignal.

Panther Fusion-systemet ger ett Ct-värde som är proportionellt mot BKV-koncentrationen i testproverna. Provets koncentration bestäms av programvaran för Panther Fusion-systemet med hjälp av BKV Ct-värden för varje reaktion, vilka sedan jämförs med kalibreringskurvan. BKV-resultat rapporteras i IU/mL och \log_{10} IU/mL för både plasma- och urinprovmaterial. När urinkonverteringsfaktorn väljs i Panther Fusion-programvaran tillämpas automatiskt en utspädningsfaktor på 2 på BKV-virusbelastningsresultaten för att ta hänsyn till utspädningssteget under bearbetningen av urinprovmaterial.

Målen och kanalerna som används för detektering i Panther Fusion-systemet sammanfattas i tabellen nedan:




Mål	Målsökt gen	Instrumentkanal
BKV	VP2	ROX
Intern kontroll	Ej tillämpligt	Quasar 705

Varningar och försiktighetsåtgärder

- A. För *in vitro*-diagnostisk användning.
- B. För professionellt bruk.
- C. Läs noga igenom hela bipacksedeln och *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System* innan du utför den här analysen.
- D. Panther Fusion enhancerreagens-B (FER-B) är frätande, skadligt vid förtäring och orsakar svårartade brännskador på huden samt ögonskador.
- E. Endast personal med adekvat utbildning i hantering och användning av denna analys och potentiellt smittförande ämnen bör utföra dessa procedurer. I händelse av spill ska ytan omedelbart desinficeras enligt lämpliga lokala rutiner.
- F. Provmaterialen kan vara smittförande. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder när du genomför den här analysen. Korrekta hanterings- och kasseringsmetoder bör upprättas av ansvariga på laboratoriet. Endast personal med adekvat utbildning i hantering av smittförande ämnen får lov att utföra denna diagnostiska procedur.⁶
- G. Iaktta sedvanliga säkerhetsrutiner för arbete i laboratorium. Pipettera inte med hjälp av munnen. Ät, drick och rök inte inom anvisade arbetsytor. Använd puderfria engångshandskar, skyddsglasögon och laboratorierockar vid hantering av provmaterial och reagens. Tvätta händerna noga efter hantering av provmaterial och reagens.
- H. Använd endast medföljande eller föreskriven laboratorieutrustning för engångsbruk.
- I. Arbetsytor, pipetter och annan utrustning måste regelbundet desinficeras med 2,5 % till 3,5 % (0,35 till 0,5 M) natriumhypokloritlösning.
- J. Material som har kommit i kontakt med provmaterial och reagens ska kasseras i enlighet med tillämpliga nationella, internationella och regionala regelverk.
- K. Upprätthåll korrekta förvaringsförhållanden vid transport av provmaterial för att säkerställa provmaterialets kvalitet. Provmaterialets hållbarhet har inte utvärderats under andra fraktförhållanden än de som rekommenderas.
- L. Undvik korskontamination vid provhantering. Var särskilt noga med att undvika förorening genom spridning av aerosoler när locken lossas eller tas av. Provmaterial kan innehålla virus eller andra organismer i mycket hög koncentration. Se till att olika provbehållare inte kommer i kontakt med varandra och kassera använda material utan att flytta dem över öppna behållare. Byt handskar om de kommer i kontakt med provmaterial.
- M. Använd inte reagens, kalibratorer eller kontroller efter utgångsdatumet. Använd inte Aptima™ urinprovtransportrör efter utgångsdatum.
- N. Förvara analyskomponenter enligt rekommenderade förhållanden. Se *Förvaring och hantering av reagens* och *Testmetod för Panther Fusion-systemet* för mer information.
- O. Kombinera inte analysreagens eller vätskor. Toppfyll inte reagens eller vätskor. Panther Fusion-systemet verifierar reagensnivåerna.
- P. Undvik att reagens förorenas med mikrober och nukleas.

- Q. Kvalitetskontroll måste utföras i enlighet med alla gällande bestämmelser och ackrediteringskrav samt laboratoriets etablerade procedurer för kvalitetskontroll.
- R. Använd inte reagenskassetten om förvaringspåsen inte är tät eller om folien på reagenskassetten inte är intakt. Kontakta Hologics tekniska support om något av dessa problem inträffar.
- S. Använd inte vätskepaketen om folietätningen inte är intakt. Kontakta Hologics tekniska support om detta inträffar.
- T. Hantera reagenskassetterna varsamt. Reagenskassetterna får inte tappas eller inverteras. Undvik långvarig exponering för omgivande ljus.
- U. Vissa reagens i den här satsen är märkta med risk- och säkerhetssymboler.

Obs! Farokommunikation återspeglar klassificeringar i EU-säkerhetsdatablad (SDS). För information i farokommunikation som är specifik för din region, se regionsspecifikt SDS på Safety Data Sheet Library på www.hologicsds.com. Mer information om symbolerna finns i symbolförklaringen på www.hologic.com/package-inserts.

Faroangivelse för EU	
	<p>Panther Fusion BKV Quant-analyskasset <i>Alpha-cyclodextrin 20-25 %</i></p> <p>— —</p> <p>H412 - Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer P273 - Undvik utsläpp till miljön P280 - Använd ögonskydd/ansiktsskydd</p>
	<p>Panther Fusion olja <i>Polydimethylsiloxane 100 %</i></p> <p>Varning H315 - Irriterar huden H319 - Orsakar allvarlig ögonirritation</p>
 	<p>Panther Fusion enhancerreagens-B (FER-B) <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10 %</i></p> <p>Fara H302 - Skadligt vid förtäring H314 - Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon P260 - Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej P280 - Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd P303 + P361 + P353 - VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten/duscha P305 + P351 + P338 - VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja P310 - Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare P280 - Använd ögonskydd/ansiktsskydd</p>

Förvaring och hantering av reagens

A. Följande tabell tillhandahåller lagrings- och hanteringskrav för denna analys.

Reagens	Förvaring, oöppnat	Stabilitet laddat/öppen hållbarhet ¹	Öppnad förvaring
Panther Fusion BKV Quant-analyskasset	2 °C till 8 °C	60 dagar	2 °C till 8 °C ²
Panther Fusion infångningsreagens-B (FCR-B)	15 °C till 30 °C	30 dagar	15 °C till 30 °C
Panther Fusion enhancerreagens-B (FER-B)	15 °C till 30 °C	30 dagar	15 °C till 30 °C
Panther Fusion intern kontroll-B (IC-B)	2 °C till 8 °C	(i wFCR-B)	Ej tillämpligt
Panther Fusion elueringsbuffert	15 °C till 30 °C	60 dagar	15 °C till 30 °C
Panther Fusion olja	15 °C till 30 °C	60 dagar	15 °C till 30 °C
Panther Fusion rekonstitutionsbuffert I	15 °C till 30 °C	60 dagar	15 °C till 30 °C
Panther Fusion BKV Quant-kalibratorer (1–5)	-15 °C till -35 °C	Ampull för engångsbruk.	Ej tillämpligt – för engångsbruk
Panther Fusion EBV–BKV Quant högpositiv kontroll	-15 °C till -35 °C	Ampull för engångsbruk.	Ej tillämpligt – för engångsbruk
Panther Fusion EBV–BKV Quant lågpositiv kontroll	-15 °C till -35 °C	Ampull för engångsbruk.	Ej tillämpligt – för engångsbruk
Panther Fusion transplant negativ kontroll (III)	-15 °C till -35 °C	Ampull för engångsbruk.	Ej tillämpligt – för engångsbruk

Reagens som avlägsnas från Panther Fusion-systemet ska omedelbart återböras till lämpliga förvaringstemperaturer.

¹ Hållbarhetstiden i instrumentet startar när reagenset placeras på Panther Fusion-systemet för Panther Fusion BKV Quant-analyskassetten, FCR-B, FER-B och IC-B. Hållbarhetstiden för Panther Fusion rekonstitutionsbuffert I, Panther Fusion elueringsbuffert, och Panther Fusion oljereagens startar första gången reagenspaketet används.

² Om reagenskassetten avlägsnas från Panther Fusion-systemet ska den förvaras i en lufttät behållare med torkmedel vid rekommenderad förvaringstemperatur.

- B. Fungerande Panther Fusion infångningsreagens-B (wFCR-B) och Panther Fusion enhancerreagens-B (FER-B) stabila i 60 dagar i försluten flaska vid 15 °C till 30 °C. Får ej förvaras i kylskåp.
- C. Oanvända reagens vars hållbarhetstid har löpt ut ska kasseras.
- D. Undvik korskontamination vid hantering och förvaring av reagens.
- E. **Reagens får inte frysas.**
- F. **Kontroller och kalibratorer får inte frysas igen.**

Insamling, bearbetning och förvaring av provmaterial

Provmaterial – kliniskt material som samlas in från en patient och placeras i ett lämpligt transportsystem. För Panther Fusion BKV Quant-analysen inbegriper detta urinprovmaterial som samlas in i den primära behållaren, plasmaprovmaterial i rör som innehåller EDTA-antikoagulantia eller plasmaberedningsrör (PPT-enheter).

Prover – är en mer allmän term för att beskriva allt material som ska testas i Panther Fusion-systemet, inklusive provmaterial, bearbetat provmaterial som överförs till Aptima transportrör för urinprovmaterial, kalibratorer samt kontroller.

Obs! Hantera alla provmaterial som om de innehåller potentiellt smittförande ämnen. Vidta allmänt vedertagna försiktighetsåtgärder.

Obs! Undvik korskontamination under hanteringen av provmaterial. Använt material ska exempelvis kasseras utan att passera över öppna rör.

Obs! Endast sekundära rör av plast rekommenderas för förvaring av prov.

A. Provtagning

1. Helblodsprovmaterial som har samlats in i följande glas- eller plaströr kan användas för att förbereda plasma:
 - Rör som innehåller EDTA-antikoagulantia
 - Plasmaberedningsrör (PPT-enheter).
2. Urinprovmaterial ska samlas in en kopp.
 - a. Efter insamlingen måste urinprovmaterialen i den primära uppsamlingsbehållaren överföras inom en timme vid 30 °C till Aptima transportrör för urinprovmaterial.
 - b. Innan urinprovmaterialen kan testas ska urinen i den primära koppen blandas ordentligt genom att den vänds om innan den förs över i Aptima transportrör för urinprovmaterial som innehåller transportmedium för urin.

B. Provbearbetning

1. Plasmaprovmaterialbehandling: Helblod kan förvaras i 2 till 30 °C och måste centrifugeras inom 24 timmar efter provtagningen. Plasma kan beredas från antingen EDTA- eller PPT-primärrör. Separera plasma från de pelletterade röda blodkropparna i enlighet med tillverkarens anvisningar för det provrör som används. Plasma kan analyseras i Panther Fusion-systemet i ett primärt rör eller överföras till ett sekundärt rör, till exempel ett Aptima SAT.

För att säkerställa tillräcklig provvolym, se följande tabell:

Tabell 1: Minsta provvolym

Rör (storlek och typ)	Minimal volym för 1 replikat
Aptima provalikvotrör (SAT)	0,6 mL
12x75 mm	0,9 mL
13x100 mm	0,9 mL
13x100 mm med gel	0,7 mL
16x100 mm med gel	1,1 mL

Plasma som inte testas omedelbart kan förvaras i enlighet med *Förvaringsförhållanden för provmaterial*.

Om plasman överförs till ett andra rör kan den frysas vid -20 °C eller -70 °C.

Frys inte in plasmaprovmaterial i EDTA-rör för primär insamling.

2. Urinprovbehandling:

- Överför 2 000 µL urin inom en timme vid 30 °C till ett Aptima-överföringsrör för urinprover innan det testas på Panther Fusion-systemet (se *Hantering av urinprov* för hantering av provmaterial).
- Sätt tillbaka locket och blanda provet försiktigt i minst 5 sekunder.

C. Förvaringsförhållanden för provmaterial

Provmaterial förvaras under något av följande förhållanden:

1. Plasmastabilitet

- Obearbetade provmaterial är stabila i 24 timmar vid 2–30 °C efter centrifugering.
- Obearbetade provmaterial är stabila i 5 dagar vid 2–8 °C efter centrifugering.
- Obearbetade och bearbetade provmaterial är stabila i 60 dagar vid -20 °C till -70 °C efter centrifugering.
- Frysta provmaterial är också stabila i upp till tre frysings-/upptiningscykler.

2. Stabilitet hos urinprovmaterial

- Obearbetade provmaterial är stabila i 6 timmar vid 2 °C till 8 °C.
- Bearbetade provmaterial är stabila i 24 timmar vid 2–30 °C.
- Bearbetade provmaterial är stabila i 5 dagar 2–8 °C.
- Bearbetade provmaterial är stabila i 60 dagar vid -20 till -70 °C.
- Frysta provmaterial är också stabila i upp till tre frysings-/upptiningscykler.

Prover i Panther Fusion-systemet

Plasma och bearbetade urinprover kan lämnas kvar i Panther Fusion-systemet utan lock i upp till 8 timmar. Prover kan tas ut från Panther Fusion-systemet och testas så länge den totala tiden i instrumentet inte överstiger 8 timmar före pipettering av provet i Panther Fusion-systemet.

Transport av provmaterial

Upprätthåll förvaringsförhållanden för provmaterial under transport enligt beskrivningen i *Insamling, bearbetning och förvaring av provmaterial*.

Obs! Provmaterial måste fraktas i enlighet med tillämpliga nationella, internationella och regionala transportbestämmelser.

Panther Fusion-systemet

Panther Fusion-systemet är ett integrerat system för nukleinsyretest med fullständigt automatiserade steg som behövs för att utföra diverse Panther Fusion-analyser från provmaterialbearbetning till amplifiering, detektering och datareduktion.

Medföljande reagens och material

Analysförpackning

Komponenter	Artikelnummer	Förvaring
Panther Fusion BKV Quant-analyskalibratorer PCAL 1 qBKV, 3 per låda PCAL 2 qBKV, 3 per låda PCAL 3 qBKV, 3 per låda PCAL 4 qBKV, 3 per låda PCAL 5 qBKV, 3 per låda	PRD-07234	-15 °C till -35 °C
Panther Fusion EBV–BKV Quant-analyskontroller HPC högpositiv kontrollrör, 5 per låda LPC lågpositiv kontrollrör, 5 per låda NC III transplant negativ kontrollrör, 5 per låda	PRD-07158	-15 °C till -35 °C
Panther Fusion BKV Quant-analyskassetter 96 tester Panther Fusion qBKV analyskasset, 12 tester, 8 per låda	PRD-07232	2 °C till 8 °C
Panther Fusion intern kontroll-B 960 tester Panther Fusion intern kontroll-B rör, 4 per låda	PRD-06234	2 °C till 8 °C
Panther Fusion extraktionsreagens-B 960 tester Panther Fusion infångningsreagens-B flaska, 240 tester, 4 per förpackning Panther Fusion enhancerreagens-B flaska, 240 tester, 4 per låda	PRD-06232	15 °C till 30 °C
Panther Fusion elueringsbuffert, 2400 tester Panther Fusion elueringsbuffertpack, 1 200 tester, 2 per förpackning	PRD-04334	15 °C till 30 °C
Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 1920 tester Panther Fusion rekonstitutionsbuffert I, 960 tester, 2 per låda	PRD-04333	15 °C till 30 °C
Panther Fusion oljereagens, 1920 tester Panther Fusion oljereagens, 960 tester, 2 per förpackning	PRD-04335	15 °C till 30 °C

Nödvändiga material som införskaffas separat

Obs! Material som finns tillgängliga hos Hologic anges med respektive artikelnummer om inget annat anges.

Material	Art. nr.
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ Module	PRD-04173
Panther Fusion™-systemet	PRD-04172
Panther™ System, kontinuerlig vätska och avfall (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima™ analysvätskesats (Aptima™ tvättlösning, Aptima™ buffert för inaktiveringsvätska samt Aptima™ oljereagens)	303014 (1000 tester)
Multirörsenheter (MTU-enheter)	104772-02
Panther™ Waste Bag Kit	902731
Panther™ Waste Bin Cover	504405
Eller, Panther™ System Run Kit <i>innehåller MTU-enheter, avfallspåsar, lock till avfallsfack, analysvätskor och Auto Detect-lösningar*</i>	303096 (5000 tester)
Spetsar, 1000 µL, filtrerade, vätskeavkännande, ledande och för engångsbruk: <i>Alla produkter är inte tillgängliga i alla regioner. Kontakta din representant för regionspecifik information.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Panther Fusion™ rörbrickor, 1 008 tester, 18 brickor per låda	PRD-04000
Aptima™ transportrör för urinprovmaterial <i>endast för bearbetning av urinprovmaterial</i>	105575 (100 förfyllda rör per påse)
Utbyteslock Hologic Solid Caps (engångslock till rör)	PRD-06720 (100 lock per påse)
Blekmedel, 5 % till 8,25% (0,7 M till 1,16 M) natriumhypokloritlösning	—
Puderfria engångshandskar	—
Skyddspapper för laboratoriebank med plastad baksida	—
Luddfria dukar	—
Pipett	—
Spetsar	—
Alternativ för primära provtagningsrör (EDTA och PPT): 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
Centrifug	—
Vortexblandare	—

*Krävs endast för Panther Aptima TMA-analyser.

Tillvalsmaterial

Material	Art. nr.
Alternativ för sekundära rör:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima™-provalikvotrör (SAT) (100-pack)	FAB-18184
Lock till transportrör (100-pack) <i>Lock till SAT-rör</i>	504415
Aptima™ spädningsmedel för provmaterial	PRD-03003
Aptima™ spädningsmedelskit för provmaterial <i>innehåller Aptima spädningsmedel för provmaterial, 100 SAT:er och 100 lock</i>	PRD-03478
Överföringspipetter	—
Provrörsvagga	—

Testmetod för Panther Fusion-systemet

Obs! Se Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System för mer information om förfaranden.

A. Förbereda arbetsytan

1. Torka av arbetsytorna med 2,5 % till 3,5 % (0,35 M till 0,5 M) natriumhypokloritlösning. Låt natriumhypokloritlösningen verka minst en minut på arbetsytorna och skölj sedan med avjoniserat vatten. Låt inte natriumhypokloritlösningen torka. Täck bänkytan med rena och absorberande skyddspapper för laboratoriebank med plastad baksida.
2. Rengör en separat bänkyta för beredning av prover. Följ proceduren som beskrivs ovan (steg A.1).
3. Rengör eventuella pipetter. Använd rengöringsproceduren som beskrivs ovan (steg A.1).

B. Bereda kalibrator och kontroller

Låt kalibratorerna och kontrollerna nå 15–30 °C före bearbetning enligt följande:

1. Ta ut kalibratorerna och kontrollerna från förvaringen (-15 till -35 °C) och placera dem i en temperatur på 15 till 30 °C. Vänd försiktigt på varje rör under upptiningsproceduren så att innehållet blandas ordentligt. Kontrollera att provrörsinnehållet är helt upptinat före användning.

Alternativ. Kalibrator- och kontrollrören kan placeras på en provrörsvagga så att innehållet blandas ordentligt. Kontrollera att provrörsinnehållet är helt upptinat före användning.

Obs! Undvik överdriven skumbildning när du vänder på kalibratorerna och kontrollerna. Skummet försämrar nivåavkänningsfunktionen i Panther Fusion-systemet.

2. När rörsinnehållet har tinat upp torkar du rörets utsida med en ren och torr engångsduk.
3. Öppna inte rören i det här stadiet eftersom det kan leda till förorening av innehållet.

C. Reagensberedning

1. Ta ut flaskorna för IC-B, FCR-B, och FER-B ur förvaring.
2. Blanda FCR-B tills sfärena är helt suspenderade. Undvik skumbildning under det här steget.
3. Öppna flaskorna för IC-B, FCR-B och FER-B och kassera locken. Öppna TCR-luckan på det övre facket i Panther Fusion-systemet.
4. Placera flaskorna för IC-B, FCR-B och FER-B i respektive positioner på TCR-karusellen.
5. Stäng TCR-luckan.

Obs! Panther Fusion-systemet tillsätter IC-B i FCR-B. När IC-B har tillsatts i FCR-B kallas det för wFCR-B (working FCR-B). Om wFCR-B och FER-B avlägsnas från systemet ska nya lock användas och förvaring ske omedelbart vid lämpliga förvaringsförhållanden.

D. Provhantering

Obs! Preparera provmaterialen enligt anvisningarna i avsnittet *Insamling, bearbetning och förvaring av provmaterial innan provmaterialen laddas i Panther Fusion-systemet.*

Inspektera provrören innan de laddas i stället. Om ett provrör innehåller bubblor eller har lägre volym än vad som typiskt observeras ska botten på röret knackas försiktigt så att innehållet samlas på botten.

E. Hantering av plasmaprovmaterial

1. Se till att bearbetat provmaterial i primära rör eller outspädda provmaterial i sekundära rör har förvarats korrekt enligt *Insamling, bearbetning och förvaring av provmaterial.*
2. Frysta provmaterial måste tinas upp ordentligt. Vortexblanda de tinade provmaterialen i 3 till 5 sekunder så att de blandas ordentligt.
3. Låt provmaterialen nå 15 till 30 °C före bearbetning. Se *Prover i Panther Fusion-systemet* för ytterligare information om hantering av prover i instrumentet.
4. Se till att varje primärt eller sekundärt rör innehåller tillräckligt provmaterial. Se Tabell 1 för minsta provvolym för 1 replikat.
5. Alla provmaterial ska centrifugeras i 1000 till 3000g i 10 minuter innan de laddas i provstället. Ta inte av locken vid det här steget.

Se steg G.2 nedan för information om laddning av ställ och borttagning av lock.

F. Hantering av urinprov

1. Se till att provmaterialet i primära rör eller bearbetat provmaterial i Aptima transportrör för urinprovmaterial förvaras korrekt enligt *Insamling, bearbetning och förvaring av provmaterial.*
2. Se till att frysta provmaterial i Aptima transportrör för urinprovmaterial är fullständigt upptinade.
3. Låt provmaterialen nå 15 till 30 °C före testning på Panther Fusion-systemet. Se *Prover i Panther Fusion-systemet* för ytterligare information om hantering av prover i instrumentet.
4. Vänd försiktigt Aptima transportrör för urinprovmaterial minst 3 gånger eller blanda försiktigt i provrörsvagga tills urinet är homogent.

Obs! Undvik överdriven skumbildning när du vänder på eller blandar rören. Skummet kan försämra nivåavkänningsfunktionen i Panther Fusion-systemet.

Se steg G.2 nedan för information om laddning av ställ och borttagning av lock.

G. Systemförberedelse

1. För anvisningar om hur du sätter upp Panther Fusion-systemet, inklusive laddning av prover, reagens, reagenskassetter och universalvätskor, se *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion System* och *Metodanmärkningar*.
2. Ladda proverna i provstället. Utför följande steg för varje provrör (prov, och, om nödvändigt, kalibratorer och kontroller):
 - a. Lossa på ett av provrörslocken, men ta inte bort det ännu.
Obs! Var särskilt noga med att undvika förorening genom spridning av aerosoler. Lossa försiktigt locken på proverna.
 - b. Ladda provröret i provstället.
 - c. Upprepa steg 2.a och 2.b för varje återstående prov.
 - d. När proverna har laddats i provstället tar du bort och kasserar varje provrörslock i ett provställ. Håll inte lock ovanför andra provställ eller provrör eftersom det kan leda till föroreningar.
 - e. Använd om så krävs en ny överföringspipett för engångsbruk för att avlägsna eventuella bubblor eller skum. Bubblor i provrören försämrar nivåavkänningsfunktionen i Panther Fusion-systemet.
 - f. När det sista locket har tagits bort laddar du provstället i provfacket.
Obs! Om du kör andra analyser och provtyper samtidigt måste du säkra provhållaren innan provstället laddas i provfacket.
 - g. Upprepa steg 2.a till 2.f med nästa provställ.

H. Beredning av system: Tillämpning av konverteringsfaktorn för urinprovmaterial

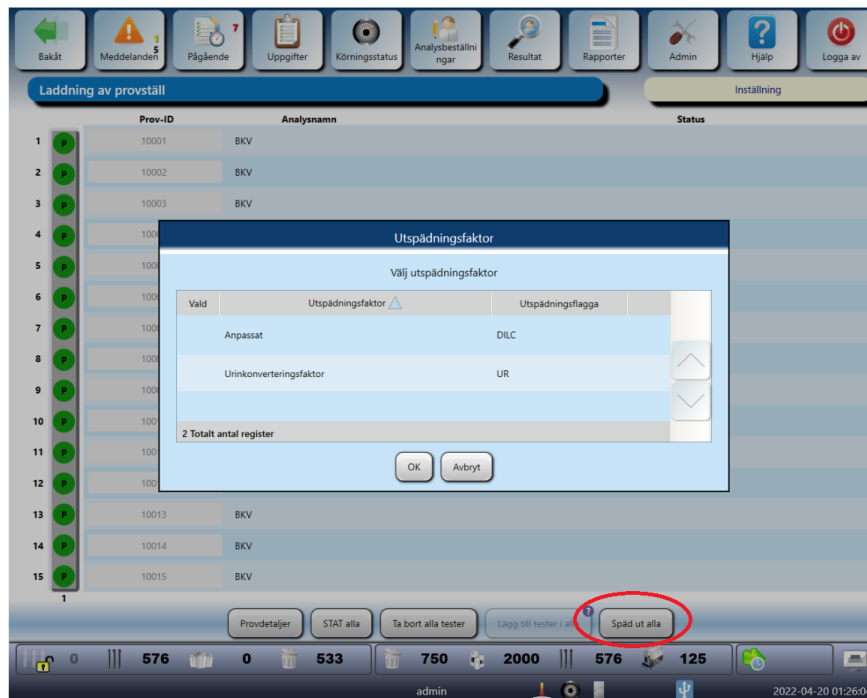
1. Konfigurera systemet enligt anvisningarna i *Användarhandledning för Panther/Panther Fusion-systemet*.
2. Ladda provställ.
3. Tillämpning av konverteringsfaktorn för urin för att analysera testbeställningar för urinprovmaterial.

Obs! Konverteringsfaktor för urin kan tillämpas på ett helt ställ eller en enskilda testorder.

För att tillämpa konverteringsfaktorn för urin ett helt ställ med urinprovmaterial:

- a. Dubbelklicka på önskat laddat ställ på skärmen *Sample Rack Bay* (provställsfack). Skärmen *Sample Rack Loading* (provställsladdning) visas för det valda stället.
- b. Välj **Dilute All (späd ut alla)**.

Fönstret *Dilution Factor* (utspädningsfaktor) visas (Figur 1).



Figur 1. Dilution Factor-fönstret i Sample Rack Loading-skärmen (exempel)

- c. Välj **Urine Conversion Factor (urinkonverteringsfaktor)**.
- d. Välj **OK**.

Fönstret *Set Dilution Factor for Rack* (ställ in utspädningsfaktorn för stället) visas.

- e. Välj **Yes (ja)** för att tillämpa flaggan för konverteringsfaktorn för urin på hela stället med urinprovmaterial.

För att tillämpa konverteringsfaktorn för urin på en enstaka testorder (Figur 2):

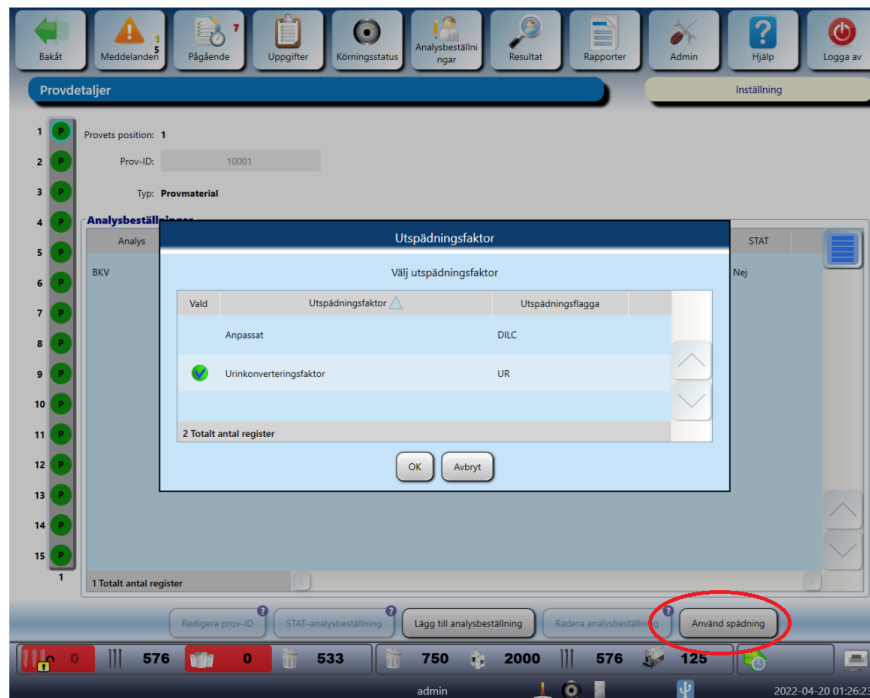
- a. Dubbelklicka på det laddade stället med provmaterial av intresse på skärmen *Sample Rack Bay* (provställsfack).

Skärmen *Sample Rack Loading* (ladda provställ) öppnas för det valda provstället.

- b. Dubbelklicka på önskat provmaterial på skärmen *Sample Rack Loading* (ladda provställ).

Skärmen *Sample Details* (provinformation) öppnas med de aktuella testbeställningarna för valt provmaterial.

- c. Välj önskad testbeställning från panelen *Test Orders* (testbeställningar).

d. Välj **Apply Dilution (tillämpa utspädning)**.

Figur 2. Dilution Factor-fönstret i Sample Details-skärmen (exempel)

- e. Välj **Urine Conversion Factor (urinkonverteringsfaktor)**.
 - f. Välj **OK** för att tillämpa flaggan för konverteringsfaktorn för urin på alla valda testbeställningar.
4. Vid behov kan urinfaktorn tas bort från testbeställningar innan bearbetningen börjar. För att ta bort konverteringsfaktorn för urin på ett helt ställ:
- a. Dubbelklicka på önskat laddat ställ på skärmen *Sample Rack Bay* (provställsack). Skärmen *Sample Rack Loading* (provställsladdning) visas för det valda stället.
 - b. Välj **Dilute All (späd ut alla)**.
 - c. Avmarkera **Urine Conversion Factor (konverteringsfaktor för urin)** i fönstret för *Dilution Factor* (utspänningsfaktor).
 - d. Välj **OK**.
Fönstret *Set Dilution Factor for Rack* (ställ in utspänningsfaktorn för stället) visas.
 - e. Välj **Yes** för att radera konverteringsfaktorn för urin på ett helt ställ.
- För att ta bort testbeställningarna för analys med konverteringsfaktorn för urin:
- a. Dubbelklicka på det laddade stället med provmaterial av intresse på skärmen *Sample Rack Bay* (provställsack). Skärmen *Sample Rack Loading* (ladda provställ) öppnas för det valda provstället.
 - b. Dubbelklicka på önskat provmaterial på skärmen *Sample Rack Loading* (ladda provställ). Skärmen *Sample Details* (provinformation) visas med de aktuella testbeställningarna för valt provmaterial.

- c. Välj önskad testbeställning från panelen *Test Orders* (testbeställningar).
- d. Välj **Apply Dilution (tillämpa utspädning)**.
- e. Avmarkera **Urine Conversion Factor (konverteringsfaktor för urin)** i fönstret för *Dilution Factor* (utspädningsfaktor).
- f. Välj **OK** för att radera konverteringsfaktorn för urin från testbeställningen.

Metodanmärkningar

A. Kalibratorer och kontroller

1. qBKV-kalibratorerna (5 rör), EBV-BKV lågpositiv kontroll (LPC), EBV-BKV högpositiv kontroll (HPC) och rören för transplantationsnegativ kontroll (NC III) kan laddas i vilken position som helst i provstället och i vilken provfackbana som helst på Panther Fusion-systemet. Pipetteringen av kalibrator- och kontrollpipetter börjar när BKV-provmaterialen laddats i systemet. Provpipettering inleds när ett av följande två villkor är uppfyllt:
 - a. Systemet bearbetar för närvarande kalibratorerna och kontrollerna.
 - b. Systemet registrerar giltiga resultat för kalibratorerna och kontrollerna.
2. När kalibrerings- och kontrollrören har pipetterats och bearbetats för Panther Fusion BKV Quant-analysen kan provmaterialen testas. Kalibreringsresultaten är giltiga i 60 dagar och kontrollresultaten är giltiga i upp till 30 dagar (frekvens konfigurerad av en administratör)
såvida inte:
 - a. Kalibratorresultaten är ogiltiga.
 - b. Kontrollresultaten är ogiltiga.
 - c. Operatören begär att få köra nya kontroller/kalibratörer i Panther Fusion-systemprogramvaran.
3. En kalibrering krävs för varje nytt parti av analyskassetlot som laddas i Panther Fusion-systemet innan det används för bearbetning av provmaterial.
4. Varje kalibrator och varje kontrollrör kan användas en gång.

Kvalitetskontroll

Analyskalibrering

För att få fram giltiga resultat måste analyskalibrering utföras. De fem positiva kalibratorerna körs i tre replikat varje gång en ny analyskassetlot laddas i Panther Fusion-systemet. En utförd analyskalibrering gäller i upp till 60 dagar. Programvaran i Panther Fusion-systemet meddelar operatören när kalibrering krävs.

Under bearbetningen kontrollerar Panther Fusion-programvaran automatiskt kalibreringskurvas giltighet. Om kalibreringen inte klarar validitetskontrollerna ogiltigförklarar Panther Fusion-systemet automatiskt alla berörda prover och kräver att en ny uppsättning kalibratörer körs innan ytterligare prover kan pipetteras.

Som standard kommer analysen att bearbeta proverna som utspädd plasma. För att bearbeta urinprover måste konverteringsfaktorn för spädning av urin väljas i instrumentets användargränssnitt.

Negativa och positiva kontroller

För att kunna erhålla giltiga resultat måste en uppsättning analyskontroller testas. Ett replikat i NC III (transplant negativ kontroll), LPC (lågpositiv kontroll) och HPC (högpositiv kontroll) måste testas varje gång en ny lot av reagenskassetter laddas i Panther Fusion-systemet eller när den nuvarande uppsättningen av giltiga kontroller för en aktiv kassetlot har upphört.

Panther Fusion-systemet konfigureras så att det kräver att analyskontroller körs vid ett administratörsangivet intervall på upp till 30 dagar. Programvaran i Panther Fusion-systemet varnar operatören när analyskontroller krävs och nya tester startas inte förrän analyskontrollerna laddas och har börjat bearbetas.

Under bearbetningen verifierar Panther Fusion-systemet automatiskt acceptanskriterier för analyskontrollerna. För att kunna erhålla giltiga resultat måste analyskontrollerna klara en serie giltighetskontroller utförda av Panther Fusion-systemet.

Om analyskontrollerna får godkänt på alla giltighetskontroller betraktas de som giltiga för det administratörsangivna tidsintervallet. När tidsintervallet har löpt ut går analyskontrollerna ut i Panther Fusion-systemet och en ny uppsättning analyskontroller krävs innan ytterligare prover pipetteras.

Om någon av analyskontrollerna inte klarar giltighetskontrollerna ogiltigförklaras de påverkade proverna automatiskt av Panther Fusion-systemet och en ny uppsättning analyskontroller krävs innan några ytterligare prover pipetteras.

Intern kontroll

En intern kontroll tillsätts i varje prov under extraktionsförfarandet. Under bearbetningen verifierar Panther Fusion-systemet programvara automatiskt acceptanskriterier för intern kontroll. Detektering av den interna kontrollen krävs inte för prover som är positiva för BKV. Den interna kontrollen måste detekteras i alla prover som är negativa för BKV. Prover som inte uppfyller det kriteriet rapporteras vara ogiltiga. Varje prov med ett ogiltigt resultat måste testas på nytt.

Panther Fusion-systemprogramvaran är konstruerad för exakt verifiering av processer då proceduren utförs i enlighet med anvisningarna i den här bipacksedeln och *Användarhandledningen för Panther/Panther Fusion-systemet*.

Tolkning av resultat

Panther Fusion-systemet fastställer automatiskt koncentrationen av BKV-DNA för provmaterial och kontroller genom att jämföra resultaten med en kalibreringskurva. BKV DNA-koncentrationer rapporteras i IU/mL och \log_{10} IU/mL. Tolkningen av resultaten ges i Tabell 2 och Tabell 3.

Tabell 2: Tolkning av resultat för plasma

Rapporterade BKV Quant-analysresultat		
IU/mL	Log ₁₀ -värde	Tolkning
Ej detekterat	Ej detekterat	BKV-DNA ej detekterat.
< 79 detekterat	< 1,90	BKV-DNA har detekterats, men på en nivå under nedre kvantifieringsgränsen (LLoQ).
79 till 1,0E09	1,90 till 9,00	BKV DNA-koncentrationen är inom det kvantitativa intervallet mellan LLoQ och ULoQ IU/mL.
> 1,0E09	> 9,00	BKV DNA-koncentrationen är över övre kvantifieringsgränsen (ULoQ).
Ogiltig ^a	Ogiltig ^a	Det uppstod ett fel när resultatet genererades. Provmaterial bör testas på nytt.

^a Ogiltiga resultat visas med blå text.

Tabell 3: Tolkning av resultat för urin

Rapporterade BKV Quant-analysresultat		
IU/mL	Log ₁₀ -värde	Tolkning
Ej detekterat	Ej detekterat	BKV-DNA ej detekterat.
< 162 detekterat	< 2,21	BKV-DNA har detekterats, men på en nivå under nedre kvantifieringsgränsen (LLoQ).
162 till 2,0E09	2,21 till 9,30	BKV DNA-koncentrationen är inom det kvantitativa intervallet mellan LLoQ och ULoQ IU/mL.
> 2,0E09	> 9,30	BKV DNA-koncentrationen är över övre kvantifieringsgränsen (ULoQ).
Ogiltig ^a	Ogiltig ^a	Det uppstod ett fel när resultatet genererades. Provmaterial bör testas på nytt.

^a Ogiltiga resultat visas med blå text.

Begränsningar

- A. Den här analysen får endast utföras av personal med utbildning i proceduren. Om dessa anvisningar inte följs finns det risk för felaktiga resultat.
- B. Pålitliga resultat förutsätter att provmaterial tas, transporteras, förvaras och bearbetas på ett korrekt sätt.
- C. Undvik kontamination genom att följa god laboratoriepraxis och procedurerna som beskrivs i den här bipacksedeln.
- D. Mutationer, även om de är ovanliga, inom de väl konserverade områdena av det virala genomet som täcks av primrarna eller sondersna i Panther Fusion BKV Quant-analys, kan leda till underkvantifiering av eller omöjlighet att detektera viruset.
- E. Negativa resultat utesluter inte infektion med BKV och bör inte användas som hållpunkt för behandling eller andra patientbehandlingsbeslut.
- F. Ett positivt resultat indikerar detektering av nukleinsyra från relevant virus. Nukleinsyra kan kvarstå även när viruset inte längre är viabelt.

Resultat

Detekteringsgräns vid användning av WHO:s första internationella standard

Detekteringsgränsen (LoD) för analysen definieras som den BKV DNA-koncentration som detekteras vid en sannolikhet på 95 % eller högre, i enlighet med CLSI EP17-A2.⁷

Detekteringsgräns i plasma med WHO-standard

LoD fastställdes genom paneltest med WHO:s första internationella standard (NIBSC-kod 14/212) för BKV utspädd i BKV-negativ human plasma. Tjugo (20) replikat av varje utspädning testades med var och en av de tre reagensloterna för totalt 60 replikat per utspädning. En probit-analys utfördes i syfte att generera förväntade detekteringsgränser. LoD-värdena som visas i Tabell 4 utgör resultaten från reagensloten med den översta förväntade detekteringsgränsen. LoD för Panther Fusion BKV Quant-analys med användning av WHO:s första internationella standard är 43,1 IU/mL för plasma.

Tabell 4: Detekteringsgräns för plasma vid användning av WHO:s första internationella standard för BKV

Förväntad detekteringsgräns	Koncentration (IU/mL)
10 %	1,6
20 %	2,1
30 %	2,7
40 %	3,5
50 %	4,5
60 %	6,1
70 %	8,6
80 %	13,3
90 %	25,3
95 %	43,1

Detekteringsgräns i urin med WHO-standard

LoD fastställdes genom paneltest med WHO:s första internationella standard för BKV utspädd i BKV-negativt humant urin. Tjugo (20) replikat av varje utspädning testades med var och en av de tre reagensloterna för totalt 60 replikat per utspädning. En probit-analys utfördes i syfte att generera förväntade detekteringsgränser. LoD-värdena som visas i Tabell 5 utgör resultaten från reagensloten med den översta förväntade detekteringsgränsen. LoD för Panther Fusion BKV Quant-analys med användning av WHO:s första internationella standard är 143,6 IU/mL för urin.

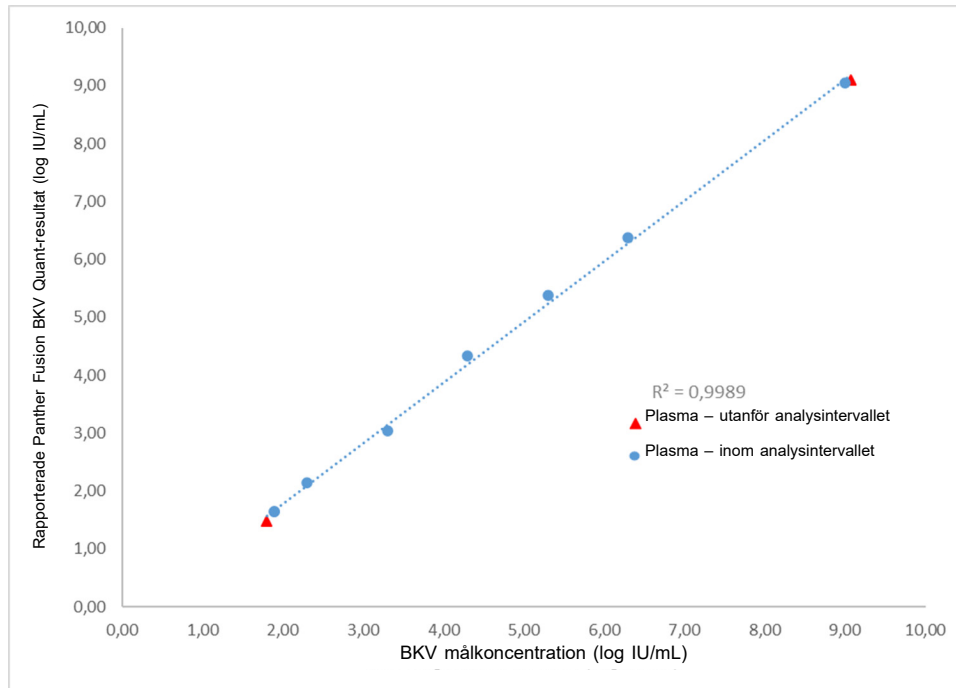
Tabell 5: Detekteringsgräns för urin vid användning av WHO:s första internationella standard för BKV

Förväntad detekteringsgräns	Koncentration (IU/mL)
10 %	3,7
20 %	6,0
30 %	9,1
40 %	13,0
50 %	18,5
60 %	26,2
70 %	38,1
80 %	58,1
90 %	99,5
95 %	143,6

Linjärt intervall

Linjärt intervall i plasma

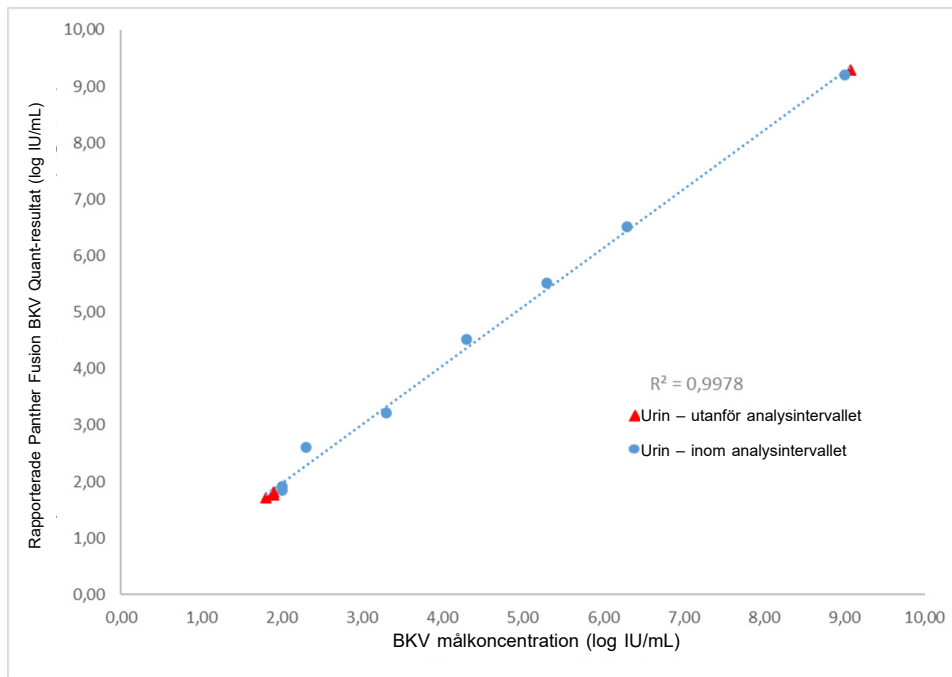
Det linjära intervallet fastställdes genom att testa BKV-paneler utspädda med BKV-negativ plasma från människa enligt CLSI EP06-A.⁸ Panelernas koncentration sträckte sig från 1,80 log IU/mL till 9,08 log IU/mL. Panther Fusion BKV Quant-analysen visade linjäritet på det testade intervallet. Analysens övre kvantifieringsgräns (ULOQ) är 9,00 log IU/mL, se Figur 3.



Figur 3. Linjäritet i plasma

Linjärt intervall i urin

Det linjära intervallet fastställdes genom att testa BKV-paneler utspädda med BKV-negativt urin från människa enligt CLSI EP06-A.⁸ Panelernas koncentration sträckte sig från 2,11 log IU/mL till 9,38 log IU/mL. Panther Fusion BKV Quant-analysen visade linjäritet på det testade intervallet. Analysens övre kvantifieringsgräns (ULoQ) är 9,30 log IU/mL, se Figur 4.



Figur 4. Linjäritet i urin

Nedre kvantifieringsgräns enligt WHO:s första internationella standard

Nedre kvantifieringsgränsen (LLoQ) definieras som den lägsta koncentration vid vilken BKV är tillförlitligt kvantifierat – enligt CLSI EP17-A2.⁷ Felmarginalen (total error) uppskattades med hjälp av Westgard-modellen: Total Error (TE) = |bias| + 2 SD. För att garantera mätningarnas exakthet och precision bestämdes felmarginalen för Panther Fusion BKV Quant-analysen till 1,2 log IU/mL, med en sanningsbias och en SD som måste vara $\leq 0,5$ log IU/mL respektive $\leq 0,35$ log IU/mL.

Nedre kvantifieringsgräns i plasma enligt WHO:s standard

LLoQ fastställdes genom paneltest med WHO:s första internationella standard (NIBSC-kod 14/212) för BKV utspädd i BKV-negativ human plasma. Tjugo (20) replikat av varje utspädning testades med var och en av de tre reagensloterna för totalt 60 replikat per utspädning. LLoQ-resultaten för de tre reagensloterna visas i Tabell 6. Den LLoQ som tas fram med WHO:s första internationella standard för BKV i plasma är 79 IU/mL (1,90 log IU/mL).

Tabell 6: Bestämning av LLoQ vid användning av WHO:s första internationella standard för BKV utspätt i plasma

Reagensbatch	N	N detekterat	Målkonzentration (log IU/ml)	BKV Quant- analys (log IU/ml)	SD (log IU/ml)	Bias (log IU/ml)	Beräknat 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=standardavvikelse $\leq 0,35$ (log IU/mL).

|Bias|=sanningsbias $\leq 0,5$ (log IU/mL).

Spädningen som motsvarar LLoQ-koncentrationen och som testats på varje reagenslot är gråmarkerad.

Nedre kvantifieringsgräns enligt WHO:s standard i urin

LLoQ fastställdes genom paneltest med WHO:s första internationella standard (NIBSC-kod 14/212) för BKV utspätt i BKV-negativt urin från människa. Tjugo (20) replikat av varje utspädning testades med var och en av de tre reagensloterna för totalt 60 replikat per utspädning. LLoQ-resultaten för de tre reagensloterna visas i Tabell 7. Den LLoQ som tas fram med WHO:s första internationella standard för BKV i urin är 162 IU/mL (2,21 log IU/mL).

Tabell 7: Bestämning av LLoQ vid användning av WHO:s första internationella standard för BKV utspätt i urin

Reagensbatch	N	N detekterat	Målkoncentration (log IU/ml)	BKV Quant- analys (log IU/ml)	SD (log IU/ml)	Bias (log IU/ml)	Beräknat 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=standardavvikelse $\leq 0,35$ (log IU/mL).|Bias|=sanningsbias $\leq 0,5$ (log IU/mL).

Spädningen som motsvarar LLoQ-koncentrationen och som testats på varje reagenslot är gråmarkerad.

Bekräftelse av nedre kvantifieringsgräns för BKV-genotyper

Nedre kvantifieringsgräns för genotyper i plasma

LLoQ fastställdes med användning av WHO-standarderna utvärderades genom att testa BKV-genotyp I (1b-2) och IV spetsad vid 3X LLoQ i BKV-negativ human plasma. Tre replikat på varje panelmedlem testades med en reagenslot. Resultaten visas i Tabell 8.

Tabell 8: Bekräftelse av LLoQ i genotyper i plasma

Isolat (genotyp)	N	N detekterat	Målkoncentration (log IU/ml)	BKV Quant- analys (log IU/ml)	SD (log IU/ml)	Bias (log IU/ml)
Genotyp I (1b-2)	3	3	2,37	2,59	0,08	0,2
Genotyp IV	3	3	2,37	2,25	0,05	0,1

SD = standardavvikelse.

Nedre kvantifieringsgräns för genotyper i urin

Den LLoQ som fastställts med WHO-standarden utfärdades genom att testa utspädningar av BKV-genotyper I (1b-2) och IV i BKV-negativt urin från människa. Tre replikat på varje panelmedlem testades med en reagenslot. Resultaten visas i Tabell 9.

Tabell 9: Bekräftelse av LLoQ i genotyper i urin

Isolat (genotyp)	N	N detekterat	Målkoncentration (log IU/ml)	BKV Quant-analys (log IU/ml)	SD (log IU/ml)	Bias (log IU/ml)
Genotyp I (1b-2)	3	3	2,69	2,43	0,27	0,0
Genotyp IV	3	3	2,69	2,57	0,16	0,2

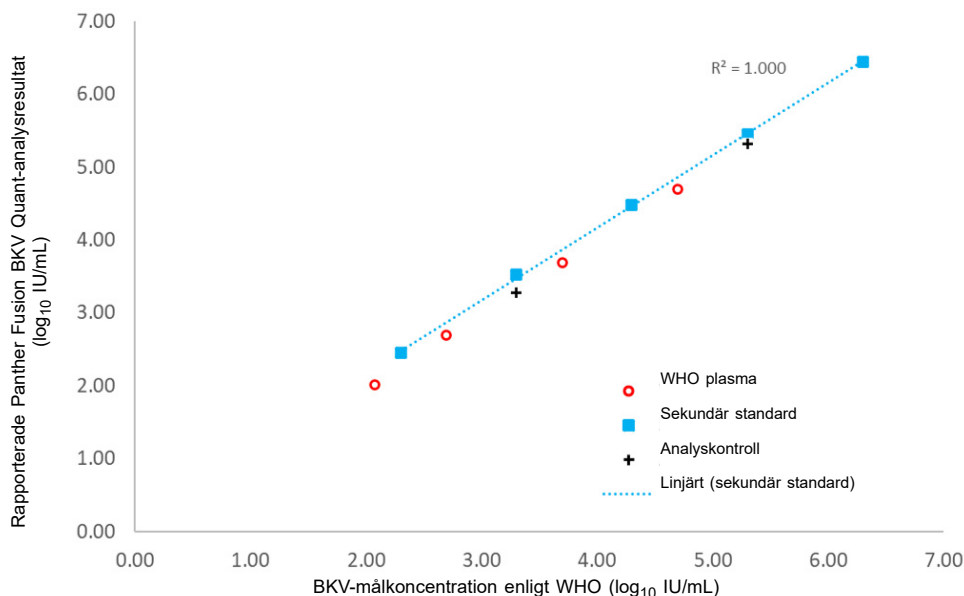
SD = standardavvikelse.

Spårbarhet till WHO:s första internationella standard

En serie sekundära standarder med kända koncentrationer användes genomgående i produktutvecklingen och produkttillverkningen för att etablera spårbarhet till WHO-standarden. WHO:s första internationella standard för BKV spädades ut och testades tillsammans med de sekundära standarderna såväl som analyskontroller och kalibratorer som används i Panther Fusion BKV Quant-analysen för att bedöma spårbarhet enligt CLSI EP32-R analysens R.⁹ För de sekundära standarderna var koncentrationsintervallet 2,30 till 6,30 log₁₀ IU/mL.

Spårbarhet till WHO-standarden med plasma

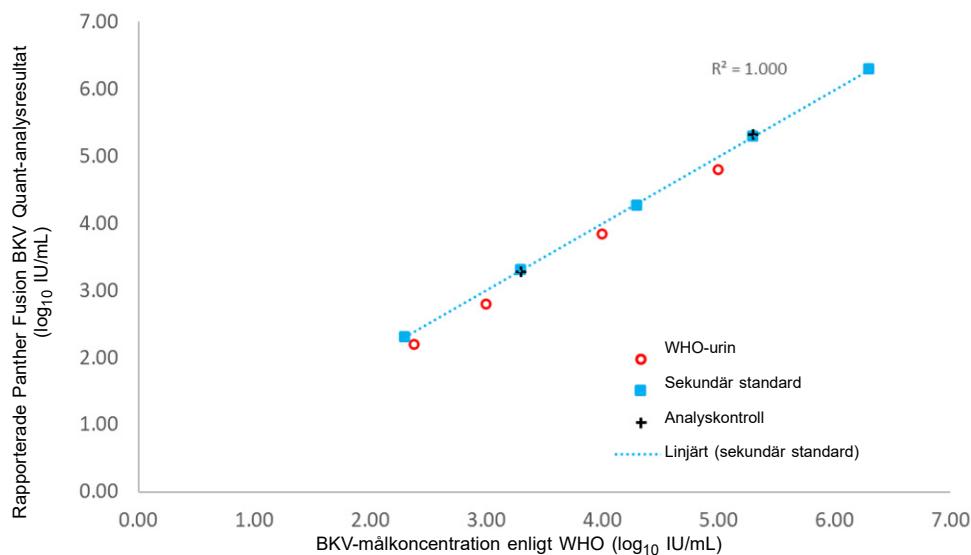
Koncentrationerna som testades för WHO:s första standard för BKV låg mellan 2,07 och 4,70 log IU/mL. WHO-plasmapanelerna, sekundära standarder, analyskontroller och analyskalibratorer återfanns i enlighet med förväntade värden över analysens linjära intervall, vilket ses i Figur 5.



Figur 5. Spårbarhet mellan WHO:s första standard för BKV för målkoncentrationer och rapporterade koncentrationer i Panther Fusion BKV Quant-analysen (WHO-standard utspädd i plasma)

Spårbarhet till WHO-standarden med urin

Koncentrationerna som testades för WHO:s första standard för BKV i urin mellan 2,38 och 5,00 log₁₀ IU/mL. WHO-urinpanelerna, sekundära standarder, analyskontroller och analyskalibratorer återfanns i enlighet med förväntade värden över analysens linjära intervall, vilket ses i Figur 6.



Figur 6. Spårbarhet mellan WHO:s första standard för BKV för målkonzentrationer och rapporterade koncentrationer i Panther Fusion BKV Quant-analysen (WHO-standard utspädd i urin)

Precision inom laboratoriet

Urin

För att bedöma precisionen inom laboratoriet gjordes en negativ panel och en panel med tre medlemmar genom spädning av BKV-DNA i BKV-negativt urin. De positiva och negativa panelerna testades av 2 peratorer med hjälp av 3 reagensloter på 3 Panther Fusion-system under 6 icke på varandra följande testdagar. Varje operatör utförde 2 körningar per dag och varje panelmedlem testades i triplikat vid varje körning. Studien utformades och analyserades enligt rekommendationer från CLSI EP-05-A3.¹⁰

Tabell 10 visar analysresultatens reproducerbarhet (i log IU/mL) för den positiva panelen mellan instrument, mellan operatörer, mellan kassetloter, mellan körningar, mellan dagar, inom körningar och totalt. Den totala variabiliteten berodde primärt på grund av variabilitet inom körningar (det vill säga slumpfel). Alla replikat av den negativa panelen var negativa.

Tabell 10: Reproducerbarhet hos Panther Fusion BKV Quant-analysen i urin

N	Genomsnittlig koncentration (log IU/ml)	Mellan Lot (batch)	Mellan instrument	Mellan operatörer	Mellan dagar	Mellan körningar	Inom körningar	Totalt
		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 = standardavvikelse.

Potentiellt interfererande substanser

Panther Fusion BKV Quant-analysens känslighet för interferens från förhöjda nivåer av endogena substanser, antikoagulantia och läkemedel som ofta ordinerats till transplantationspatienter utvärderades i BKV-negativa matriser i närvaro eller frånvaro av 2,37 log IU/mL och 2,69 log IU/mL av BKV i plasma respektive urin. Testkoncentrationerna för vardera av substanserna som kan interferera valdes baserat på tillgängliga referenser från litteraturen samt riktlinjer från CLSI EP07¹¹ och EP37.¹²

Ingen interferens observerades gällande exaktheten av kvantifieringen eller i urinprover i närvaro av potentiellt interfererande substanser som anges i Tabell 11 och Tabell 12.

Tabell 11: Plasmaendogena substanser

Potentiellt interfererande substans	Antal replikat	Testad koncentration
Albumin	3	6000 mg/dL
Konjugerat bilirubin	3	40 mg/dL
Hemoglobin	3	10 mg/dL
Genomiskt DNA från människa	3	0,2 mg/dL
Triglycerider	3	3,45 mg/dL
Okonjugerat bilirubin	3	40 mg/dL

Tabell 12: Urinendogena substanser

Potentiellt interfererande substans	Antal replikat	Testad koncentration
Albumin	3	6000 mg/dL
Konjugerat bilirubin	3	40 mg/dL
Estradiol	3	8E-05 mg/dL
Glukos	3	200 mg/dL
Mucin	3	6 mg/dL
Mononukleära celler från perifert blod	3	1E+06 celler/mL
pH, sur (HCl)	3	2 mM
pH, alkalisk (NaOH)	3	0,2 mM
Sperma	3	5 %
Helblod	3	2 %

Ingen interferens observerades gällande exaktheten av kvantifieringen i närvaro av de exogena substanser som anges i Tabell 13 och Tabell 14.

Tabell 13: Exogena substanser för plasma

Potentiellt interfererande substans	Antal replikat	Testad koncentration
Acyclovir	3	6,6 mg/dL
Azathioprin	3	0,258 mg/dL
Cefotetan	3	71,1 mg/dL
Cidofovir	3	12,4 mg/dL
Kaliumklavulanat	3	1,47 mg/mL
Ciklosporin	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 relaterad förening B	3	18,1 mg/dL
Naproxen	3	36 mg/dL
Piperacillin	3	110 mg/dL
Prednison	3	0,0099 mg/dL
Sirolimus	3	0,0213 mg/dL
Sulfametoxazol	3	35,7 mg/dL
Tacrolimus	3	0,0144 mg/dL
Tazobaktam som natriumsalt	3	10,2 mg/dL
Ticarcillin disodium	3	151 mg/dL
Trimetoprim	3	4,2 mg/dL
Valganciclovir	3	4,83 mg/dL
Vancomycin	3	12 mg/dL

Tabell 14: Exogena substanser för urin

Potentiellt interfererande substans	Antal replikat	Testad koncentration
Paracetamol	3	3 mg/dL
Acetylsalicylsyra	3	3 mg/dL
Klotrimazol	3	0,5 mg/dL
Ibuprofen	3	21,9 mg/dL
Metronidazol	3	12,3 mg/dL
Naproxen	3	36 mg/dL
Fenazopyridinhydroklorid	3	79,5 mg/dL
Propylenglykol	3	130 mg/dL
Talk	3	5 mg/dL

Analytisk specificitet

Potentiell korsreaktivitet för patogenerna i Tabell 15 utvärderades för BKV-negativ matriser i närvaro eller frånvaro av 2,37 log IU/mL och 2,69 log IU/mL BKV i plasma respektive urin. Patogener testades vid högsta tillgängliga koncentrationen. Ingen korsreaktivitet eller interferens observerades gällande exaktheten av kvantifieringen.

Tabell 15: Patogener som har testats för analytisk specificitet

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

Tabell 15: Patogener som har testats för analytisk specificitet (forts.)

Mikroorganism/patogen	Koncentration	Mikroorganism/patogen	Koncentration
HBV	1,00E+05 IU/mL	<i>Streptococcus bovis</i>	1,00E +06 CFU/mL
HCV	1,00E+04 IU/mL	<i>Streptococcus oralis</i>	1,00E +06 CFU/mL
HIV-1	1,00E+05 IU/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E +06 CFU/mL
HIV-2	1,00E+04 IU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E +06 CFU/mL
HSV-1	1,00E+06 TCID ₅₀ /mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,00E+05 Trofozoiter/mL
HSV-2	1,00E+04 TCID ₅₀ /mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1,00E+06 cp/mL
HPV-16 (SiHa-celler infekterade)	1,00E+05 celler/mL	Varicella Zoster-virus	1,00E+05 cp/mL
Humant herpesvirus 6	1,00E+05 cp/mL	—	—

CCU/mL=koloniändrande enheter/mL

CFU/mL=kolonibildande enheter per mL.

cp/mL=viruskopior per mL.

IFU/mL=inklusionsbildande enheter per mL.

IU/mL = internationella enheter per mL.

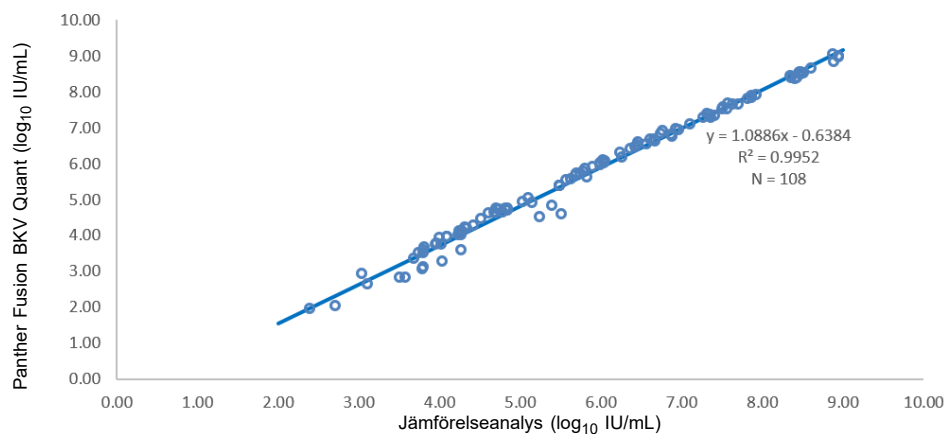
TCID₅₀/mL=infektös dos i vävnadsordning, enheter per mL.

Metodkorrelation

Studien utformades i enlighet med CLSI EP09c.¹³

Metodkorrelation för plasma

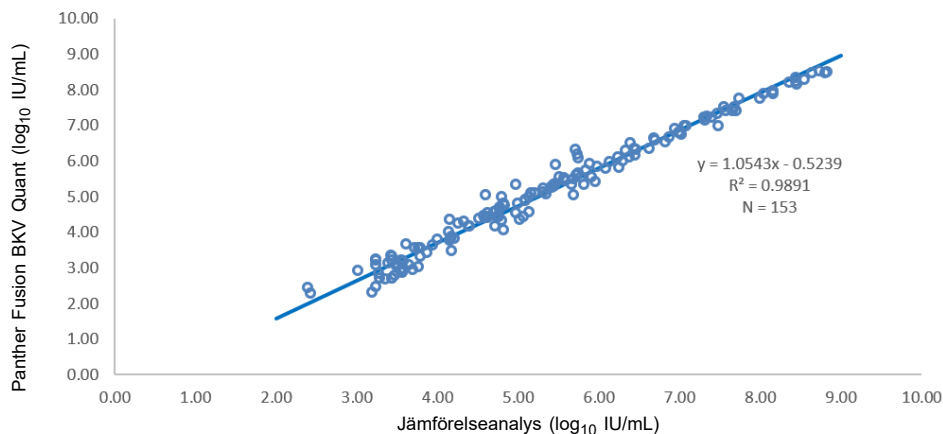
Resultaten hos Panther Fusion BKV Quant-analysen utvärderades gentemot en jämförelseanalys genom att testa retrospektivt insamlade provmaterial och konstruerade provmaterial som täcker hela det linjära intervallet. Sammanlagt 108 provmaterial inom det linjära intervall som är gemensamt för båda analyserna användes för Deming-regression enligt Figur 7.



Figur 7. Korrelation mellan BKV-virusbelastning i Panther Fusion BKV Quant-analysen och jämförelseanalysen vid test av plasmaprover

Metodkorrelation för urin

Resultaten hos Panther Fusion BKV Quant-analysen utvärderades gentemot en jämförelseanalys genom att testa retrospektivt insamlade provmaterial och konstruerade provmaterial som täcker hela det linjära intervallet. Sammanlagt 153 provmaterial inom det linjära intervall som är gemensamt för båda analyserna användes för Deming-regression enligt Figur 8.



Figur 8. Korrelation mellan BKV-virusbelastning i Panther Fusion BKV Quant-analysen och jämförelseanalysen vid test av urinprover

Korskontamination

Korskontamination utvärderades med BKV-spetsade STM-prover med höga titret (1,00E +09 IU/mL) spridda mellan BKV-negativa prover i ett schackrutigt mönster. Testningen gjordes över fem körningar. Den övergripande korskontaminationen var 0,00 % (0/150).

Referenser

- Muhsin SA, Wojciechowski D. 2019. BK Virus In transplant recipients: current perspectives. *Transpl Res Risk Manag.* 11:47-58.
- van Aalderen MC, Heutink 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
- 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
- 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
- 1st WHO International Standard for BK Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 14/212, Version 3.0).
- Clinical & Laboratory Standards Institute. Document M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI:s hemsida <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (4 april 2022)
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

Kontaktinformation



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



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

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

För landsspecifika e-postadresser och telefonnummer för tekniskt stöd och kundtjänst, besök www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther och Panther Fusion och motsvarande logotyper är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Hologic, Inc. och/eller dess dotterbolag i USA och/eller andra länder.

Quasar är ett registrerat varumärke och är licensierat av Biosearch Technologies, Inc.

Andra varumärken som kan förekomma i denna bipacksedel tillhör respektive ägare.

Den här produkten omfattas eventuellt av ett eller flera USA-patent som anges på www.hologic.com/patents.

©2022-2023 Hologic, Inc. Med ensamrätt.

AW-26020-1601 Rev. 002
2023-12