

BKV Quant-assay (Panther Fusion™)

voor *in vitro* diagnostisch gebruik

Alleen voor export uit de VS

INHOUD

Algemene informatie	2
Beoogd gebruik	2
Samenvatting en uitleg van de test	2
Uitgangspunten van de procedure	2
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	4
Eisen voor opslag en verwerking van reagentia	6
Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens	7
Specimens in het Panther Fusion-systeem	8
Transport van specimens	8
Panther Fusion System	9
Geleverde reagentia en materialen	9
Benodigde en apart geleverde materialen	10
Optionele materialen	11
Testprocedure voor het Panther Fusion-systeem	11
Procedurele opmerkingen	16
Kwaliteitscontrole	17
Assaykalibratie	17
Negatieve en positieve controles	17
Interne controle	18
Interpretatie van resultaten	19
Beperkingen	20
Prestaties	21
Detectielimiet met behulp van de eerste internationale standaard van de WHO	21
Lineair bereik	22
Ondergrens van kwantificering met behulp van de eerste internationale standaard van de WHO	23
Bevestiging van de ondergrens van kwantificering van BKV-geotypen	25
Traceerbaarheid tot de eerste internationale standaard van de WHO	26
Binnen Laboratoriumprecisie	27
Potentieel storende stoffen	28
Analytische specificiteit	30
Correlatie van methoden	31
Overdracht/kruisbesmetting	32
Literatuur	33
Contactgegevens	33

Algemene informatie

Beoogd gebruik

De Panther Fusion™ BKV Quant-assay is een volledig geautomatiseerde real-time PCR (RT-PCR) *in vitro* nucleïnezuuramplificatietest voor de kwantificering van humaan BK-virus (BKV)-DNA in menselijk plasma en urinespecimens.

De Panther Fusion BKV Quant-assay is bedoeld voor gebruik als hulpmiddel bij de diagnose en bij de behandeling van patiënten met een orgaantransplantatie en patiënten met een hematopoëtische stamceltransplantatie.

De Panther Fusion BKV Quant-assay is niet bedoeld voor gebruik als screeningsassay voor de aanwezigheid van BKV in plasma of urine. Deze assay is bedoeld voor gebruik op het Panther Fusion System (Panther Fusion-systeem).

Samenvatting en uitleg van de test

BKV is een veel voorkomend, klein en niet-omhuld virus met een gesloten circulair dubbelstrengs DNA-genoom. BKV is een humaan polyomavirus dat behoort tot de familie van de papovaviridae.

Primaire blootstelling aan BKV vindt plaats in de kindertijd, waardoor 80 tot 90% van de volwassenen antistoffen tegen BKV heeft ontwikkeld. De meeste primaire BKV-infecties zijn asymptomatisch of minimaal symptomatisch. Na primaire infectie wordt aangenomen dat het virus latent blijft in de urinewegen zonder manifestatie van de ziekte bij immunocompetente personen.¹

Virale reactivering komt voor bij immuungecompromiteerde personen en komt vaak voor bij niertransplantatiepatiënten en hematopoëtische stamceltransplantatie (HSCT) patiënten. Bij niertransplantatiepatiënten wordt BKV-reactivering geassocieerd met nefropathie (BKVN) en ureterale stenose, BKVN komt voor bij ongeveer 5% van de niertransplantatiepatiënten binnen een jaar na transplantatie. BKV-reactivering is belangrijk voor HSCT-ontvangers met laat optredende hemorragische cystitis die optreedt bij 6% tot 29% van de patiënten binnen 2 maanden na transplantatie.²

Kwantitatieve nucleïnezuuramplificatietests van plasma- of urinespecimens zijn een belangrijke laboratoriummarker voor de diagnose en monitoring van BKV-infectie bij ontvangers van transplantaten. Recente richtlijnen bevelen aan dat niertransplantatiepatiënten regelmatig worden gescreend op BKV-DNA-spiegels in plasma na transplantatie om de patiënten te identificeren die in aanmerking komen voor preventieve behandeling van nefropathie. Het risico op het ontwikkelen van BKVN is verhoogd wanneer hoge niveaus van BKV-DNA worden waargenomen in plasma of urine, maar kan optreden bij patiënten met lagere BKV-waarden.^{3,4}

Uitgangspunten van de procedure

Het Panther Fusion-systeem automatiseert de verwerking van specimens volledig, inclusief cellysis, nucleïnezuurvangst, amplificatie en detectie voor de Panther Fusion BKV Quant-assay. De Panther Fusion BKV Quant-assay richt zich op het sterk geconserveerde VP2-gen om een nauwkeurige kwantificering van BKV-DNA te garanderen. De test is gestandaardiseerd volgens de 1e internationale WHO-standaard (NIBSC-code: 14/212) voor BKV.⁵

Sampleverwerking en nucleïnezuur-capture: Een interne controle (IC-B) wordt automatisch aan elk specimen toegevoegd via het werkende Fusion opvangreagens-B (wFCR-B) om te controleren op interferentie tijdens specimenverwerking, amplificatie en detectie veroorzaakt door falen van het reagens of remmende stoffen. Specimens worden eerst toegevoegd aan Fusion opvangreagens-B (FCR-B) en Fusion versterkereagens-B (FER-B) om nucleïnezuur vrij te maken voor hybridisatie met magnetische deeltjes. De vangdeeltjes worden vervolgens in een magnetisch veld gescheiden van de resterende specimenmatrix door een reeks stappen van wassen met een mild reinigingsmiddel. Het captured nucleïnezuur wordt vervolgens geëluëerd van de magnetische deeltjes met een reagens met een lage ionsterkte (Panther Fusion Elution Buffer).

Opmerking: Het Panther Fusion-systeem voegt de IC-B toe aan de FCR-B. Nadat de IC-B is toegevoegd aan de FCR-B, wordt deze wFCR-B genoemd.

PCR-amplificatie en fluorescentiedetectie: Gevriesdroogde PCR-mastermix met enkelvoudige eenheidsdosis wordt gereconstitueerd met de Panther Fusion Reconstitutiebuisje I en vervolgens gecombineerd met het geëluëerde nucleïnezuur in een reactiebuisje. Panther Fusion oliereagens wordt toegevoegd om verdamping tijdens de PCR-reactie te voorkomen. Op PCR gebaseerde doelamplificatie vindt vervolgens plaats met doelspecifieke voorwaartse en achterwaartse primers die een fluorescentiesignaal genereren.

Het Panther Fusion-systeem levert een Ct-waarde die evenredig is met de BKV-concentratie in de testspecimens. De specimenconcentratie wordt bepaald door de Panther Fusion-systeemsoftware met behulp van de BKV Ct-waarden voor elke reactie en deze te vergelijken met de kalibratiecurve. BKV-resultaten worden gerapporteerd in IE/mL en \log_{10} IE/mL voor zowel plasma- als urinespecimens. Wanneer de urineconversiefactor in de Panther Fusion-software is geselecteerd, wordt automatisch een verdunningsfactor van 2 toegepast op de BKV-virale ladingsresultaten om rekening te houden met de verdunningsstap tijdens de verwerking van urinespecimens.

De doelen en de kanalen die worden gebruikt voor hun detectie op het Panther Fusion-systeem staan samengevat in de onderstaande tabel:

Doel	Doelgen	Kanaal op het instrument
BKV	VP2	ROX
Interne controle	Niet van toepassing	Quasar 705

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Voor *in-vitro* diagnostiek.
- B. Voor professioneel gebruik.
- C. Lees aandachtig de hele bijsluiter en de *Panther/Panther Fusion-systeem Gebruikershandleiding* voordat u deze assay uitvoert.
- D. Het Panther Fusion versterkerreagens-B (FER-B) is bijtend, schadelijk bij inslikken en veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel.
- E. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van deze assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedures uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures binnen de instelling.
- F. De specimens kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen bij het uitvoeren van deze assay. De directeur van het laboratorium moet de juiste hanterings- en verwijderingsmethoden vaststellen. Alleen personeel dat afdoende is getraind in het verwerken van besmettelijke materialen, mag worden toegestaan om deze diagnostische procedure uit te voeren.⁶
- G. Pas de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen voor laboratoria toe. Niet met de mond pipetteren. Eet, drink en rook niet in de aangegeven werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het verwerken van specimens en reagentia. Was uw handen grondig na het hanteren van specimens en reagentia.
- H. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven wegwerpartikelen voor in het laboratorium.
- I. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing.
- J. Gooi alle materialen die in contact zijn geweest met specimens en reagentia weg conform de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving.
- K. Zorg dat de specimens worden verzonden onder de juiste bewaaromstandigheden om ervoor te zorgen dat ze intact blijven. De stabiliteit van de specimens in andere transportomstandigheden dan aanbevolen is niet geëvalueerd.
- L. Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de specimens worden verwerkt. Wees vooral voorzichtig als u de doppen van de specimens losmaakt of verwijdert om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Specimens kunnen een extreem hoog niveau aan virussen of andere organismen bevatten. Zorg ervoor dat specimenhouders niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet af boven open houders. Vervang uw handschoenen als deze met een specimen in contact komen.
- M. Gebruik de reagentia, kalibrators of controles niet na de uiterste gebruiksdatum. Gebruik de Aptima™-transportbuis voor urinespecimens niet na de uiterste gebruiksdatum.
- N. Sla de assaycomponenten op volgens de aanbevolen bewaarcondities. Zie *Eisen voor opslag en verwerking van reagentia* en *Testprocedure voor het Panther Fusion-systeem* voor meer informatie.

- O. Assayreagentia of vloeistoffen mogen niet worden gecombineerd. Flessen voor reagentia of vloeistoffen mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther Fusion-systeem controleert het niveau van de reagentia.
- P. Voorkom microbiële en nuclease contaminatie van de reagentia.
- Q. De vereiste kwaliteitscontroles moeten worden uitgevoerd in overeenstemming met lokale, provinciale en/of nationale voorschriften of accreditatie-eisen en standaardprocedures voor kwaliteitscontrole van elk laboratorium.
- R. Gebruik het assaypatroon niet als de verzegeling van de opbergzak is verbroken of als de folie van het assaypatroon niet intact is. Neem contact op met de afdeling Technische Ondersteuning van Hologic als van een van beide sprake is.
- S. Gebruik de vloeistofverpakkingen niet als de folieverzegeling niet intact is. Neem contact op met de afdeling Technische Ondersteuning van Hologic als dat gebeurt.
- T. Hanteer de assaypatronen voorzichtig. Laat de assaypatronen niet vallen en keer deze niet om. Vermijd langdurige blootstelling aan omgevingslicht.
- U. Enkele reagentia van deze kit zijn geëtiketteerd met risico- en veiligheidssymbolen.

Opmerking: Gevarencommunicatie volgt de classificaties in veiligheidsinformatiebladen (SDS) van de EU. Voor informatie met gevarencommunicatie die specifiek is voor uw regio raadpleegt u de voor de regio bestemde SDS in de bibliotheek met veiligheidsgegevensbladen via www.hologicsds.com.

Europese gevareninformatie	
—	<p>Panther Fusion BKV Quant-assaycartridge <i>Alpha-cyclodextrin 20-25%</i></p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen P273 - Voorkom lozing in het milieu P280 - Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>
	<p>Panther Fusion Oil (olie) <i>Polydimethylsiloxane 100%</i></p> <p>Waarschuwing H315 - Veroorzaakt huidirritatie H319 - Veroorzaakt ernstige oogirritatie</p>
 	<p>Panther Fusion Versterkerreagentia-B (FER-B) <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10%</i></p> <p>Gevaar H302 - Schadelijk bij inslikken H314 - Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel P260 - Stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel niet inademen P280 - Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen P303 + P361 + P353 - BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken - huid met water afspoelen/afdouchen P305 + P351 + P338 - BIJ CONTACT MET DE OGEN: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten; contactlenzen verwijderen, indien mogelijk; blijven spoelen P310 - Onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts raadplegen P280 - Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>

Eisen voor opslag en verwerking van reagentia

A. De onderstaande tabel biedt eisen voor opslag en verwerking voor deze assay.

Reagens	Ongeopende opslag	In systeem/ Open stabiliteit ¹	Geopende opslag
Panther Fusion BKV Quant-assaycartridge	2°C tot 8°C	60 dagen	2°C tot 8°C ²
Panther Fusion Opgangreagentia-B (FCR-B)	15°C tot 30°C	30 dagen	15°C tot 30°C
Panther Fusion Versterkerreagentia-B (FER-B)	15°C tot 30°C	30 dagen	15°C tot 30°C
Panther Fusion interne controle-B (IC-B)	2°C tot 8°C	(In wFCR-B)	Niet van toepassing
Panther Fusion Elution Buffer (elutiebuffer)	15°C tot 30°C	60 dagen	15°C tot 30°C
Panther Fusion Oil (olie)	15°C tot 30°C	60 dagen	15°C tot 30°C
Panther Fusion Reconstitution Buffer I (restitutiebuffer I)	15°C tot 30°C	60 dagen	15°C tot 30°C
Panther Fusion BKV Quant-kalibrators (1-5)	-15°C tot -35°C	Wegwerpflacon	Niet van toepassing, eenmalig gebruik
Panther Fusion EBV–BKV Quant hoog positieve Controle	-15°C tot -35°C	Wegwerpflacon	Niet van toepassing, eenmalig gebruik
Panther Fusion EBV–BKV Quant laag positieve controle	-15°C tot -35°C	Wegwerpflacon	Niet van toepassing, eenmalig gebruik
Panther Fusion Transplantaat negatieve controle (III)	-15°C tot -35°C	Wegwerpflacon	Niet van toepassing, eenmalig gebruik

Wanneer reagentia uit het Panther Fusion System worden gehaald, moeten deze onmiddellijk opnieuw op de juiste opslagtemperatuur worden gebracht.

¹ De stabiliteit in het systeem begint op het moment dat het reagens op het Panther Fusion-systeem wordt geplaatst voor de Panther Fusion BKV Quant-assaycartridge, FCR-B, FER-B en IC-B. De stabiliteit in het systeem voor de Panther Fusion-restitutiebuffer I, de Panther Fusion-elutiebuffer en de Panther Fusion oliereagentia begint wanneer het reagenspakket voor het eerst wordt gebruikt.

² Wanneer de assaycartridge uit het Panther Fusion-systeem wordt verwijderd, sla deze dan op in een luchtdichte houder met droogmiddel bij de aanbevolen opslagtemperatuur.

B. Working Panther Fusion opvangreagens-B (wFCR-B) en Panther Fusion versterkerreagens-B (FER-B) zijn 60 dagen stabiel wanneer ze worden afgedekt en bewaard bij 15°C tot 30°C. Niet koelen.

C. Voer ongebruikte reagentia af waarvan de stabiliteit is afgenomen.

D. Vermijd kruisbesmetting tijdens de verwerking en opslag van reagentia.

E. **Reagentia mogen niet worden ingevroren.**

F. **Vries controles of kalibrators niet opnieuw in.**

Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens

Specimens – Klinisch materiaal verzameld bij de patiënt en in een geschikt transportsysteem geplaatst. Voor de Panther Fusion BKV Quant-assay omvat dit urinespecimens die zijn verzameld in de primaire container, de plasmaspecimens in buisjes met EDTA-anticoagulantia of plasmabereidingsbuisjes (PPT's).

Samples – Vertegenwoordigt een meer algemene term voor het beschrijven van materiaal voor testen op het Panther Fusion-systeem, inclusief specimens, verwerkte specimens die zijn overgebracht naar een Aptima-transportbuis voor urinespecimens, kalibrators en controles.

Opmerking: *Behandel alle specimens alsof ze potentieel besmettelijke stoffen bevatten. Pas universele voorzorgsmaatregelen toe.*

Opmerking: *Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de specimens worden verwerkt. Voer gebruikt materiaal bijvoorbeeld niet boven open buizen af.*

Opmerking: *Voor het bewaren van specimens worden alleen plastic secundaire buisjes aanbevolen.*

A. Specimenafname

1. Volbloedspecimens die in de volgende glazen of kunststof buisjes zijn afgenomen, kunnen worden gebruikt voor het prepareren van plasma:
 - Buisen die EDTA-anticoagulantia bevatten
 - PPT-buisen (Plasma Preparation Tubes)
2. Urinespecimens moeten in een beker worden verzameld.
 - a. Na afname moeten urinespecimens in de primaire opvangcontainer binnen een uur bij 30°C in de Aptima-transportbuis voor urinespecimens worden overgebracht.
 - b. Voordat urinespecimens kunnen worden getest, moet de urine in de primaire beker grondig worden gemengd door inversie voorafgaand aan het overbrengen in de Aptima-transportbuis voor urinespecimens die urinetransportmedium bevat.
 - c. Er moet precies 2000 µL urine worden overgebracht naar een Aptima-transportbuisje voor urinespecimens.
 - d. Plaats de dop terug en meng het specimen voorzichtig gedurende minimaal 5 seconden.

B. Verwerking van het specimen

1. Plasma: Volbloed kan worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C en moet binnen 24 uur na specimenafname worden gecentrifugeerd. Plasma kan worden bereid uit primaire buisjes van EDTA of PPT. Scheid het plasma van de gepelleteerde rode bloedcellen volgens de instructies van de fabrikant voor de gebruikte buis. Plasma kan worden getest op het Panther Fusion-systeem in een primaire buis of worden overgebracht naar een secundaire buis zoals een Aptima Specimen aliquotbuis (SAT).

Raadpleeg de volgende tabel om te zorgen voor voldoende specimenvolume:

Tabel 1: *Minimaal specimenvolume*

Buisje (afmeting en type)	Minimumvolume voor 1 replicaat
Aptima SAT-buisje (Sample Aliquot Tube)	0,6 mL
12 x 75 mm	0,9 mL
13 x 100 mm	0,9 mL
13 x 100 mm met gel	0,7 mL
16 x 100 mm met gel	1,1 mL

Indien niet onmiddellijk getest, kan plasma worden bewaard conform de *Voorwaarden voor het bewaren van specimens*. Indien overgebracht naar een secundaire buis, kan plasma worden ingevroren bij -20°C of -70°C. Vries geen plasmaspecimens in primaire EDTA-verzamelbuisjes in.

- Urine moet binnen een uur bij 30°C worden overgebracht in voorgevulde Aptima-transportbuisjes voor urinespecimens voordat de urine wordt getest op het Panther Fusion-systeem (zie *Verwerken van urinespecimens* voor de behandeling van specimens).

C. Voorwaarden voor het bewaren van specimens

Specimens kunnen worden bewaard onder een van de volgende voorwaarden:

1. Plasmastabiliteit

- Onverwerkte specimens zijn na centrifugeren 24 uur stabiel bij 2°C tot 30°C.
- Onverwerkte specimens zijn na centrifugeren 5 dagen stabiel bij 2°C tot 8°C.
- Onverwerkte en verwerkte specimens zijn na centrifugeren 60 dagen stabiel bij -20°C of -70°C.

2. Stabiliteit van urinespecimens

- Verwerkte specimens zijn 24 uur stabiel bij 2°C tot 30°C.
- Verwerkte specimens zijn 5 dagen stabiel bij 2°C tot 8°C.
- Verwerkte specimens zijn 60 dagen stabiel bij -20°C of -70°C.

Specimens in het Panther Fusion-systeem

Plasma- en bewerkte urinespecimens kunnen maximaal 8 uur zonder dop op het Panther Fusion-systeem blijven. Specimens mogen uit het Panther Fusion-systeem worden verwijderd en getest zolang de totale tijd in het systeem niet meer dan 8 uur bedraagt voordat het specimen door het Panther Fusion-systeem wordt gepipetteerd.

Transport van specimens

Handhaaf de opslagcondities van het specimen tijdens het transport zoals beschreven onder *Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens*.

Opmerking: *Specimens moeten worden vervoerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving voor transport.*

Panther Fusion System

Het Panther Fusion-systeem is een geïntegreerd nucleïnezuurteststelsel dat alle stappen die nodig zijn om verschillende Panther Fusion-assays uit te voeren volledig automatiseert, van specimenverwerking tot amplificatie, detectie en gegevensreductie.

Geleverde reagentia en materialen

Assay-verpakking

Componenten	Artikelnr.	Storage [Opslag]
Panther Fusion BKV Quant assaykalibrators PCAL 1 qBKV, 3 per doos PCAL 2 qBKV, 3 per doos PCAL 3 qBKV, 3 per doos PCAL 4 qBKV, 3 per doos PCAL 5 qBKV, 3 per doos	PRD-07234	-15°C tot -35°C
Panther Fusion EBV-BKV Quant assay-controles HPC High Positive Control-buisje, 5 per doos LPC Low Positive Control-buisje, 5 per doos NC III Transplant Negative Control-buisje, 5 per doos	PRD-07158	-15°C tot -35°C
Panther Fusion BKV Quant assaycartridge 96 tests Panther Fusion qBKV testcartridge, 12 tests, 8 per doos	PRD-07232	2°C tot 8°C
Panther Fusion interne controle-B 960-tests Panther Fusion Internal Control-B tube, 4 per box	PRD-06234	2°C tot 8°C
Panther Fusion-extractiereagens-B 960-tests Panther Fusion Capture Reagent-B-fles, 240 tests, 4 per doos Panther Fusion versterkerreagens-B fles, 240 tests, 4 per doos	PRD-06232	15°C tot 30°C
Panther Fusion Elution Buffer (elutiebuffer) 2400 Tests Panther Fusion Elution Buffer-pakket, 1200 tests, 2 per doos	PRD-04334	15°C tot 30°C
Panther Fusion Reconstitution Buffer I (reconstitutiebuffer I) 1920 Tests Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 960 Tests, 2 per doos	PRD-04333	15°C tot 30°C
Panther Fusion Oil Reagent (oliereagens) 1920 Tests Panther Fusion Oil Reagent, 960 tests, 2 per doos	PRD-04335	15°C tot 30°C

Benodigde en apart geleverde materialen

Opmerking: Voor materialen die bij Hologic verkrijgbaar zijn, is het catalogusnummer vermeld, tenzij ze op andere wijze zijn gespecificeerd.

Materiaal	Cat. nr.
Panther System	303095
Panther Fusion Module	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Aptima-assayvloeistofkit (Vloeistoffenpakket: Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid en Aptima Oil Reagent)	303014 (1000 tests)
Multi-tube units (MTU's, uit meerdere buisjes bestaande eenheden)	104772-02
Panther Waste Bag Kit (afvalzakpakket)	902731
Panther Waste Bin Cover (afvalbakdeksel)	504405
Of runkit voor het Panther System bevat MTU's, afvalzakken, deksels van afvalbakken, testvloeistoffen en automatische detectie*	303096 (5000 tests)
Tips, 1000 µL, gefilterd, vloeistofgevoelig, geleidend en wegwerpbaar: <i>Sommige producten zijn niet in alle regio's verkrijgbaar. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor specifieke informatie over de verkrijgbaarheid in uw regio.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Panther Fusion buistrays, 1008 tests, 18 trays per doos	PRD-04000
Aptima Transportbuizen voor urinespecimen alleen voor het verwerken van urinespecimens	105575 (100 voorgevulde buisjes per zak)
Vervangende Hologic Solid Caps (buisdop voor eenmalig gebruik)	PRD-06720 (100 doppen per zak)
Bleekmiddel, 5% tot 8,25% (0,7 M tot 1,16 M) natriumhypochlorietoplossing	—
Poederloze wegwerphandschoenen	—
Laboratoriumtafelkleden met plastic achterkant	—
Pluivrije doekjes	—
Pipet	—
Tips [Tippen]	—
Opties voor primaire opvangbuisjes (EDTA en PPT): 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

*Alleen nodig voor Panther Aptima TMA Assays.

Optionele materialen

Materiaal	Cat. nr.
Opties secundaire buisjes:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-SAT-buizen (100 stuks)	503762
Transportbuisdop (100 stuks) <i>dop voor SAT-buis</i>	504415
Aptima-specimenverduunningsmiddel	PRD-03003
Kit voor Aptima-specimenverduunningsmiddel <i>bevat Aptima Specimenverduunningsmiddel, 100 SAT's en 100 caps</i>	PRD-03503
Transferpipetten	—
Schudmachine	—

Testprocedure voor het Panther Fusion-systeem

Opmerking: Raadpleeg de Panther/Panther Fusion-systeem Gebruikershandleiding voor aanvullende procedurele informatie.

A. Voorbereiding van het werkoppervlak

1. Veeg werkoppervlakken af met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut intrekken en spoel de werkoppervlakken daarna af met gedeïoniseerd (DI) water. De natriumhypochlorietoplossing mag niet opdrogen. Bedek het werkoppervlak met schone, absorberende laboratoriumtafelkleden met een plastic achterkant.
2. Reinig een apart deel van het werkoppervlak waar specimens worden bereid. Gebruik de hierboven beschreven procedure (Stap A.1).
3. Reinig de pipetten. Gebruik de hierboven beschreven reinigingsprocedure (Stap A.1).

B. Voorbereiding van kalibrators en controles

Laat de kalibrators en controles als volgt op 15°C tot 30°C komen voordat ze worden verwerkt:

1. Haal de kalibrators en controles uit de opslag (-15°C tot -35°C) en plaats ze op 15°C tot 30°C. Keer tijdens het ontdooiproces elke buis voorzichtig om om grondig te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooid is.

Optie. Kalibrator- en controlebuisjes mogen op een schudmachine worden geplaatst om de inhoud goed te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooid is.

Opmerking: Voorkom dat er overmatig schuim ontstaat bij het omkeren van de kalibrators en bedieningselementen. Schuim verstoort de niveauwaarneming door het Panther Fusion-systeem.

2. Droog na ontdooiing van de inhoud de buitenkant van de buis af met een schoon, droog wegwerpdoekje.
3. Open de buizen niet om vervuiling te voorkomen.

C. Prepareren van het reagens

1. Verwijder de flessen met IC-B, FCR-B en FER-B uit de opslag.
2. Meng FCR-B totdat de kralen volledig zijn opgeschort. Vermijd schuimvorming tijdens deze stap.
3. Open de flessen IC-B, FCR-B en FER-B en gooi de doppen weg. Open de TCR-deur bovenaan in het Panther Fusion-systeem.
4. Plaats de IC-B-, FCR-B- en FER-B-flessen in de juiste posities op de TCR-carrousel.
5. Sluit de TCR-deur.

Opmerking: Het Panther Fusion-systeem voegt de IC-B toe aan de FCR-B. Nadat de IC-B wordt toegevoegd aan de FCR-B, wordt hiernaar verwezen als wFCR-B (werkende FCR-B). Als de wFCR-B en FER-B uit het systeem worden verwijderd, gebruik dan nieuwe doppen en bewaar ze onmiddellijk volgens de juiste bewaarcondities.

D. Verwerken van specimens

Opmerking: Bereid specimens voor volgens de instructies in hoofdstuk Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens voordat u specimens op het Panther Fusion-systeem laadt.

Inspecteer samplebuizen voordat u deze in het samplerek plaatst. Als een samplebuis luchtbelletjes bevat of een lager volume dan normaliter waargenomen wordt, tik dan voorzichtig op de onderkant van de buis om de inhoud naar de bodem te laten zinken.

E. Werken met plasmascapimens

1. Zorg ervoor dat verwerkte specimens in primaire buisjes of onverdunde specimens in secundaire buisjes op de juiste manier worden bewaard conform *Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens*.
2. Controleer of bevroren specimens goed ontdooid zijn. Vortex de ontdooide specimens gedurende 3 tot 5 seconden om grondig te mengen.
3. Zorg dat de specimens zich vóór verwerking tussen 15°C en 30°C bevinden. Raadpleeg *Specimens in het Panther Fusion-systeem* voor aanvullende informatie.
4. Zorg ervoor dat elk primair of secundair buisjes voldoende specimens bevat. Raadpleeg Tabel 1 voor minimaal specimenvolume voor 1 replica.
5. Vlak voordat u de specimens in een specimenrek plaatst, centrifugeert u elk specimen gedurende 10 minuten op 1000 tot 3000 g. Verwijder bij deze stap geen doppen.
Zie stap G.2 hieronder voor informatie over het plaatsen van het rek en het verwijderen van de doppen.

F. Verwerken van urinespecimens

1. Zorg ervoor dat specimens in primaire buisjes of verwerkte specimens in Aptima-transportbuisjes voor urinespecimens op de juiste manier worden bewaard conform *Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens*.
2. Zorg ervoor dat bevroren specimens in Aptima-transportbuisjes voor urinespecimens grondig worden ontdooid. Laat de specimens 15 °C tot 30 °C bereiken voordat u ze gaat testen op het Panther Fusion-systeem. Raadpleeg *Specimens in het Panther Fusion-systeem* voor aanvullende informatie.

Opmerking: Laad specimens die precipitaten bevatten niet op het Panther Fusion-systeem.

3. Keer de Aptima-transportbuisjes voor urinespecimens voorzichtig ten minste 3 keer om, of meng voorzichtig op een schouder, totdat de urine een homogene substantie vormt.

Opmerking: Vermijd het creëren van overmatig schuim bij het omkeren of mengen van de buisjes. Schuim kan de niveaudetectie door het Panther Fusion-systeem in gevaar brengen.

Zie stap G.2 hieronder voor informatie over het plaatsen van het rek en het verwijderen van de doppen.

G. Voorbereiding van het systeem

1. Voor instructies over het instellen van het Panther Fusion-systeem, inclusief het laden van speciemens, reagentia, testcartridges en universele vloeistoffen, raadpleegt u de *Panther/Panther Fusion-systeem Gebruikershandleiding* en *Procedurele opmerkingen*.
2. Plaats de speciemens in het specimenrek. Voer de volgende stappen uit voor elk specimenbuisje (specimen en, indien nodig, kalibrators en controles):
 - a. Maak één specimen dop los, maar verwijder de dop nog niet.

Opmerking: Wees vooral voorzichtig om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Draai de doppen op de specimenbuisjes voorzichtig los.
 - b. Plaats de specimenbuis in het specimenrek.
 - c. Herhaal stappen 2.a en 2.b voor elk overblijvend specimen.
 - d. Wanneer de specimenbuisjes in het specimenmagazijn zijn geplaatst, dient u de dop van elke specimenbuis in één specimenmagazijn los te draaien en af te voeren. Houd een dop niet boven andere specimenmagazijnen of specimenbuisjes om besmetting te voorkomen.
 - e. Gebruik zo nodig een nieuwe wegwerptransferpipet om luchtballen of schuim te verwijderen. Luchtballen in het buisje verstoren detectie van het vloeistofpeil door het Panther Fusion-systeem.
 - f. Wanneer de laatste dop is verwijderd, laadt u het specimenrek in het speciemenvak.

Opmerking: Als u tegelijkertijd andere assays met andere soorten speciemens uitvoert, zet de speciemhouder dan vast voordat u het specimenrek in het vak voor specimenrekken plaatst.
 - g. Herhaal stappen 2.a t/m 2.f voor het volgende specimenrek.

H. Voorbereiding van het systeem: De conversiefactor voor urinespecimens toepassen

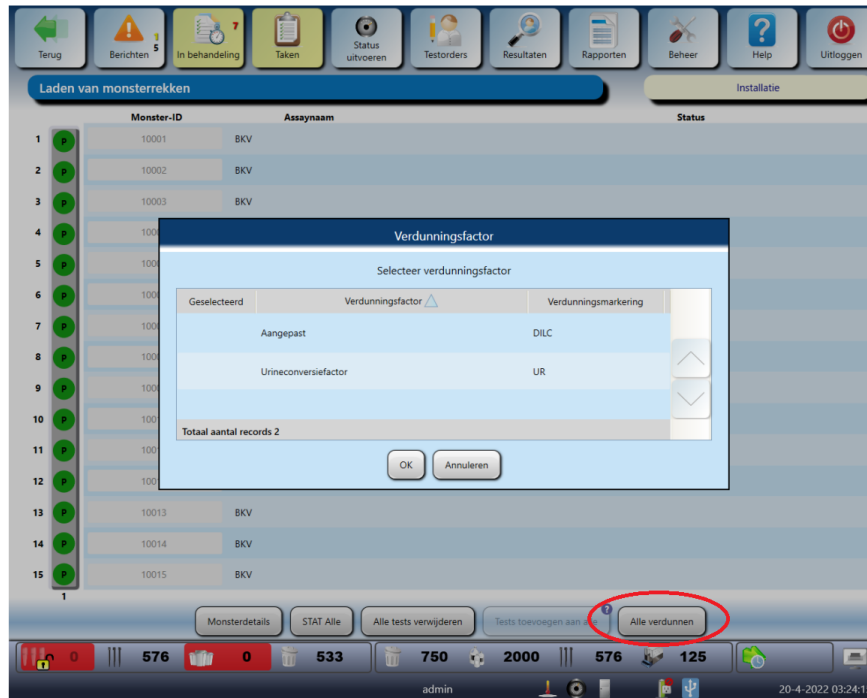
1. Stel het systeem in volgens de instructies in de *Panther/Panther Fusion-systeem Gebruikershandleiding*.
2. Plaats het specimenrek.
3. Pas de urineconversiefactor toe op testorders voor urinespecimens.

Opmerking: De urineconversiefactor kan worden toegepast op een heel rek of op een enkele testorder.

De urineconversiefactor toepassen op een heel rek met urinespecimens:

- a. In het scherm *Vak voor specimenrekken* dubbelklikt u op het betreffende rek dat geladen is. Het scherm *Specimenrek laden* verschijnt voor het geselecteerde rek.
- b. Selecteer **Alles verdunnen**.

Het venster *Verdunningsfactor* verschijnt (Afbeelding 1).

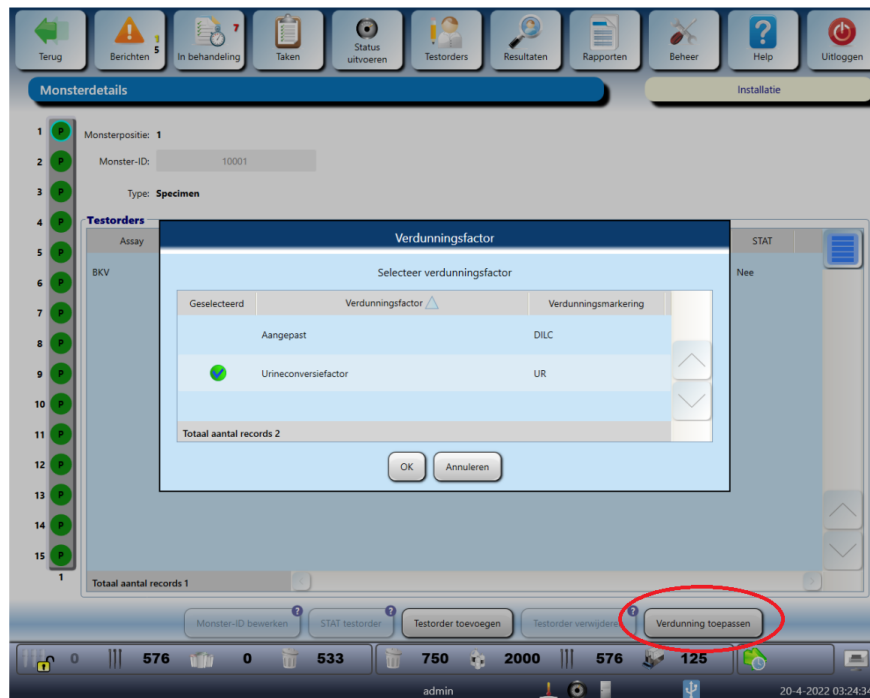


Afbeelding 1. Het venster *Verdunningsfactor* in het laadscherm van het specimenrek (voorbeeld)

- c. Selecteer **Urineconversiefactor**.
- d. Selecteer **OK**.
Een *ingestelde verdunningsfactor* voor rekvenster verschijnt .
- e. Selecteer **Ja** om de markering urineconversiefactor toe te passen op het hele rek met urinespecimens.

Om de urineconversiefactor toe te passen op één testopdracht (Afbeelding 2):

- a. In het scherm *Vak voor specimenrekken* dubbelklikt u op het geladen rek met de betreffende specimens.
Het scherm *Specimenrek laden* wordt weergegeven voor het geselecteerde specimenrek.
- b. Op het scherm *Specimenrek laden* dubbelklikt u op het betreffende specimen.
Het scherm *Specimengegevens* verschijnt met de huidige testorders voor het geselecteerde specimen.
- c. Selecteer de desbetreffende testorder in het panel *Test Orders* [Testorders].

d. Selecteer **Verdunning toepassen**.

Afbeelding 2. Het venster Verdunningsfactor in het scherm Specimengegevens (voorbeeld)

- e. Selecteer **Urineconversiefactor**.
 - f. Selecteer **OK** om op alle geselecteerde testorders de markering urineconversiefactor toe te passen.
4. Indien nodig kan de urinefactor vóór aanvang van de verwerking uit testorders worden verwijderd.

Om de urineconversiefactor van een heel rek te verwijderen:

- a. In het scherm *Vak voor specimenrekken* dubbelklikt u op het betreffende rek dat geladen is.
Het scherm *Specimenrek laden* wordt weergegeven voor het geselecteerde rek.
- b. Selecteer **Alles verdunnen**.
- c. Schakel in het venster *Verdunningsfactor* de selectie van **Urineconversiefactor** uit.
- d. Selecteer **OK**.

Het scherm *Set Dilution Factor for Rack (Stel verdunningsfactor voor rek in)* verschijnt.

- e. Selecteer **Ja** om de urineconversiefactor van een heel rek te verwijderen.

Om de testorders voor de urineconversiefactor-assay te verwijderen:

- a. In het scherm *Vak voor specimenrekken* dubbelklikt u op het geladen rek met de betreffende specimens.
Het scherm *Specimenrek laden* wordt weergegeven voor het geselecteerde specimenrek.
- b. Op het scherm *Specimenrek laden* dubbelklikt u op het betreffende specimen.
Het scherm *Specimengegevens* wordt weergegeven met de huidige testopdrachten voor het geselecteerde specimen.

- c. Selecteer de desbetreffende testorder in het panel *Test Orders* [Testorders].
- d. Selecteer **Verdunning toepassen**.
- e. Schakel in het venster *Verdunningsfactor* de selectie van **Urineconversiefactor** uit.
- f. Selecteer **OK** om de urineconversiefactor uit de testopdracht te verwijderen.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibrators en bedieningselementen

1. De qBKV-kalibrators (5 buisjes), de EBV-BKV-buisjes met een lage positieve controle (LPC), de buisjes met de EBV-BKV met een hoge positieve controle (HPC) en de buisjes met de negatieve controle voor transplantatie (NC III) kunnen in elke positie in het specimenrek worden geladen en in elke Sample Bay-baan op het Panther Fusion-systeem. Het pipetteren van de kalibrator en controle begint wanneer BKV-specimens in het systeem zijn geladen. Specimens worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
 - a. De kalibrators en controles worden momenteel door het systeem verwerkt.
 - b. Geldige resultaten voor de kalibrators en controles worden in het systeem geregistreerd.
2. Nadat de kalibrator- en controlebuisjes zijn gepipetteerd en zijn verwerkt voor de Panther Fusion BKV Quant-assay, kunnen specimens worden getest. Kalibratieresultaten zijn 60 dagen geldig en controleresultaten zijn maximaal 30 dagen geldig (frequentie geconfigureerd door een beheerder), **tenzij**:
 - a. de resultaten voor de kalibrator ongeldig zijn;
 - b. de controleresultaten ongeldig zijn;
 - c. de laborant om nieuwe controles/kalibrators in Panther Fusion-systeemsoftware vraagt.
3. Er een kalibratie vereist is voor elke nieuwe batch assaycartridge die in het Panther Fusion-systeem wordt geladen voordat het wordt gebruikt voor specimenverwerking.
4. Elke kalibrator en elk controlebuisje kan één keer worden gebruikt.

Kwaliteitscontrole

Assaykalibratie

Om geldige resultaten te genereren, moet de testkalibratie worden voltooid. De vijf positieve kalibrators worden in drievoud uitgevoerd telkens wanneer een nieuwe partij assaycartridges op het Panther Fusion-systeem wordt geladen. Eenmaal vastgesteld, is de testkalibratie maximaal 60 dagen geldig. Software op het Panther Fusion-systeem waarschuwt de laborant wanneer kalibratie vereist is.

Tijdens de verwerking verifieert de Panther Fusion-software automatisch de geldigheid van de kalibratiecurve. Als de kalibratie niet door de geldigheidscontroles komt, maakt het Panther Fusion-systeem automatisch alle betrokken specimens ongeldig en moet er een nieuwe set testkalibrators worden uitgevoerd voordat eventuele extra specimens worden gepipetteerd.

Standaard verwerkt de assay specimens als onverdund plasma. Om urinespecimens te verwerken, moet de verdunning van de urineconversiefactor worden geselecteerd in de gebruikersinterface van het instrument.

Negatieve en positieve controles

Voor geldige resultaten moet een set assaycontroles worden getest. Eén replica van de NC III (transplantatie-negatieve controle), de LPC (laag positieve controle) en de HPC (hoge positieve controle) moet worden getest telkens wanneer een nieuwe batch testcartridges in het Panther Fusion-systeem wordt geladen of wanneer de huidige set geldige controles voor een actieve cartridgepartij is verlopen.

Het Panther Fusion System is geconfigureerd om assaycontroles uit te voeren op een door de beheerder gespecificeerde interval met een maximum van 30 dagen. De software op het Panther Fusion System waarschuwt de gebruiker wanneer er assaycontroles nodig zijn en start geen nieuwe tests voordat de assaycontroles geladen zijn en de verwerking ervan is begonnen.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van assaycontroles automatisch geverifieerd door de software op het Panther Fusion System. Voor het genereren van geldige resultaten, moeten de assaycontroles een aantal geldigheidscontroles doorstaan die door het Panther Fusion System worden uitgevoerd.

Als de assaycontroles alle geldigheidscontroles doorstaan, worden deze geldig beschouwd voor het door de beheerder opgegeven tijdsinterval. Wanneer het tijdsinterval is verstreken, zijn de testcontroles verlopen door het Panther Fusion-systeem en is een nieuwe set testcontroles vereist voordat eventuele extra specimens worden gepipetteerd.

Als een van de assaycontroles de geldigheidscontroles niet doorstaat, maakt het Panther Fusion-systeem de betrokken specimens automatisch ongeldig en is een nieuwe set assaycontroles vereist voordat eventuele extra specimens worden gepipetteerd.

Interne controle

Aan elk specimen wordt tijdens het extractieproces een interne controle toegevoegd. Tijdens de verwerking worden de acceptatiecriteria voor interne controle automatisch door de software van het Panther Fusion System gecontroleerd. Detectie van de interne controle is niet vereist voor specimens die positief zijn voor BKV. Bij alle specimens die negatief zijn voor BKV dient de interne controle te worden aangetoond; specimens die niet aan dat criterium voldoen, worden als ongeldig gerapporteerd. Elk specimen met een ongeldig resultaat moet opnieuw worden getest.

De software van het Panther Fusion-systeem is ontworpen om processen nauwkeurig te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in deze bijsluiter en de *Panther/ Panther Fusion-systeem Gebruikershandleiding*.

Interpretatie van resultaten

Het Panther Fusion-systeem bepaalt automatisch de concentratie van BKV-DNA voor specimen en controles door de resultaten te vergelijken met een kalibratiecurve. BKV-DNA-concentraties worden gerapporteerd in IE/mL en \log_{10} IE/mL. De interpretatie van de resultaten wordt gegeven in Tabel 2 en Tabel 3.

Tabel 2: Interpretatie van plasmaresultaten

Gerapporteerde BKV Quant Assay-resultaten		
IE/mL	Log ₁₀ Waarde	Interpretatie
Niet aangetroffen	Niet aangetroffen	BKV-DNA niet gedetecteerd.
< 79 gedetecteerd	< 1,90	BKV-DNA wordt gedetecteerd, maar op een niveau onder de ondergrens van kwantificering (LLoQ).
79 t/m 1.0E09	1,90 t/m 9,00	De BKV-DNA-concentratie ligt binnen het kwantitatieve bereik tussen LLoQ en ULoQ IE/mL.
> 1.0E09	> 9,00	De BKV-DNA-concentratie ligt boven de bovengrens van kwantificering (ULoQ).
Ongeldige ^a	Ongeldige ^a	Er is een fout opgetreden bij het genereren van het resultaat. Specimen moet opnieuw worden getest.

^a Ongeldige resultaten worden weergegeven in blauwe letters.

Tabel 3: Interpretatie van urineresultaten

Gerapporteerde BKV Quant Assay-resultaten		
IE/mL	Log ₁₀ Waarde	Interpretatie
Niet aangetroffen	Niet aangetroffen	BKV-DNA niet gedetecteerd.
< 162 gedetecteerd	< 2,21	BKV-DNA wordt gedetecteerd, maar op een niveau onder de ondergrens van kwantificering (LLoQ).
162 t/m 2.0E09	2,21 t/m 9,30	De BKV-DNA-concentratie ligt binnen het kwantitatieve bereik tussen LLoQ en ULoQ IE/mL.
> 2.0E09	> 9,30	De BKV-DNA-concentratie ligt boven de bovengrens van kwantificering (ULoQ).
Ongeldige ^a	Ongeldige ^a	Er is een fout opgetreden bij het genereren van het resultaat. Specimen moet opnieuw worden getest.

^a Ongeldige resultaten worden weergegeven in blauwe letters.

Beperkingen

- A. Het gebruik van deze test is beperkt tot personeel dat getraind is in deze procedure. Het niet naleven van deze instructies kan tot foutieve resultaten leiden.
- B. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van een adequate afname, transport, opslag en verwerking van specimen.
- C. Vervuiling kan worden voorkomen door naleving van goede laboratoriumpraktijken en de procedures die in deze bijsluiters staan aangegeven.
- D. Hoewel zeldzaam, kunnen mutaties in de sterk geconserveerde regio's van het virale genoom die door de primers en/of sondes in de Panther Fusion BKV Quant-assay worden gedekt, ertoe leiden dat het virus onvoldoende wordt gekwantificeerd of niet wordt gedetecteerd.
- E. Negatieve resultaten sluiten BKV-infecties niet uit en mogen niet worden gebruikt als enige basis voor behandeling of andere managementbeslissingen.
- F. Een positief resultaat geeft de detectie van nucleïnezuur van het betreffende virus aan. Er kan nucleïnezuur aanwezig blijven zelfs nadat het virus niet langer levensvatbaar is.

Prestaties

Detectielimiet met behulp van de eerste internationale standaard van de WHO

De detectielimiet (LoD) van de test wordt gedefinieerd als de concentratie van BKV-DNA die wordt gedetecteerd met een waarschijnlijkheid van 95% of meer volgens CLSI EP17-A2.⁷

Detectielimiet met behulp van WHO-standaarden in plasma

De LoD werd bepaald door het testen van panels van de eerste internationale standaard van de WHO (NIBSC-code 14/212) voor BKV verdund in BKV-negatief humaan plasma. Twintig (20) replica's van elke verdunning werden getest met elk van drie batches reagentia voor in totaal 60 replica's per verdunning. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor de voorspelde detectielimieten. De LoD-waarden weergegeven in Tabel 4 zijn de resultaten van de batch reagentia met de hoogste voorspelde detectielimiet. De LoD voor de Panther Fusion BKV Quant-assay met behulp van de eerste internationale standaard van de WHO is 43,1 IE/mL voor plasma.

Tabel 4: Detectielimiet voor plasma met behulp van de eerste internationale standaard van de WHO voor BKV

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

Detectielimiet met behulp van WHO-standaarden in urine

De LoD werd bepaald door het testen van panels van de 1st WHO International Standard for BKV verdund in BKV-negatieve menselijke urine. Twintig (20) replica's van elke verdunning werden getest met elk van drie batches reagentia voor in totaal 60 replica's per verdunning. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor de voorspelde detectielimieten. De LoD-waarden weergegeven in Tabel 5 zijn de resultaten van de batch reagentia met de hoogste voorspelde detectielimiet. De LoD voor de Panther Fusion BKV Quant-assay met behulp van de eerste internationale standaard van de WHO is 143,6 IE/mL voor urine.

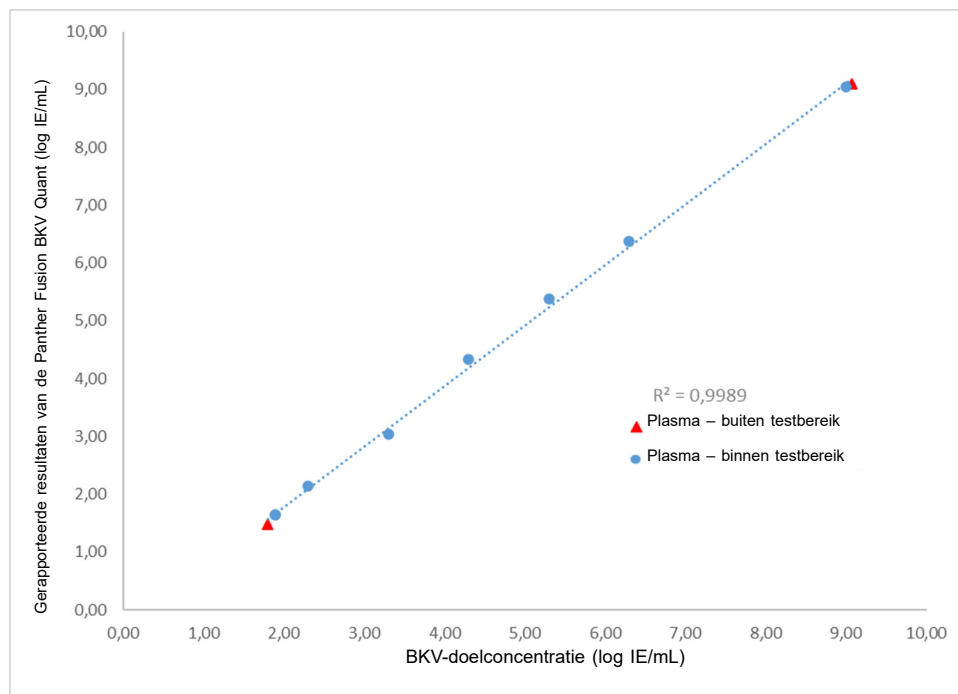
Tabel 5: Detectielimiet voor urine volgens de eerste internationale standaard van de WHO voor BKV

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

Lineair bereik

Lineair bereik in plasma

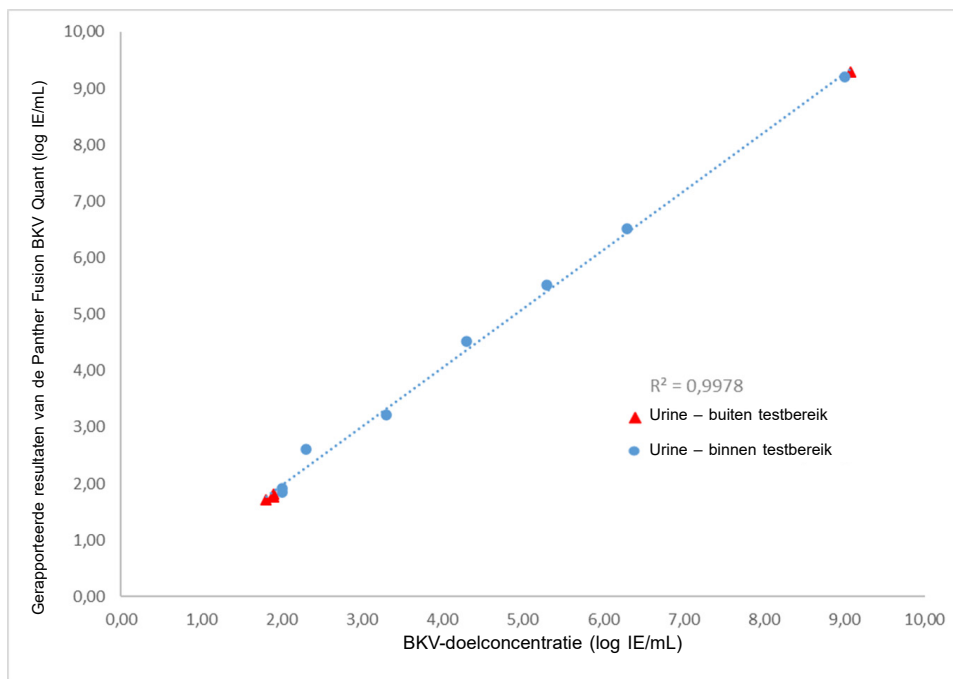
Het lineaire bereik werd vastgesteld door het testen van panels van BKV verdund in BKV-negatief humaan plasma volgens CLSI EP06-A.⁸ Panels varieerden in concentratie van 1,80 log IE/mL t/m 9,08 log IE/mL. De Panther Fusion BKV Quant-assay toonde lineariteit over het geteste bereik. De bovengrens van kwantificering (ULoQ) van de test is 9,00 log IE/mL, zoals weergegeven in Afbeelding 3.



Afbeelding 3. Lineariteit in plasma

Lineair bereik in urine

Het lineaire bereik werd vastgesteld door het testen van panels van BKV verdund in BKV-negatieve menselijke urine volgens CLSI EP06-A.⁸ Panels varieerden in concentratie van 2,11 log IE/mL tot 9,38 log IE/mL. De Panther Fusion BKV Quant-assay toonde lineariteit over het geteste bereik. De bovengrens van kwantificering (ULoQ) van de test is 9,30 log IE/mL, zoals weergegeven in Afbeelding 4.



Afbeelding 4. Lineariteit in urine

Ondergrens van kwantificering met behulp van de eerste internationale standaard van de WHO

De ondergrens van kwantificering (LLoQ) wordt gedefinieerd als de laagste concentratie waarbij BKV betrouwbaar wordt gekwantificeerd, volgens CLSI EP17-A2.⁷ De totale fout werd geschat met behulp van het Westgard-model: Totale fout (TE) = |bias| + 2 SD. Om precisie en nauwkeurigheid van de metingen te garanderen, werd de totale fout van de Panther Fusion BKV Quant-assay ingesteld op 1,2 log IE/mL, met een voorkeur voor de waarheid en een SD die respectievelijk $\leq 0,5$ log IE/mL en $\leq 0,35$ log IE/mL moet zijn.

Ondergrens van kwantificering met behulp van de WHO-standaard in plasma

De LLoQ werd bepaald door het testen van panels van de eerste internationale standaard van de WHO (NIBSC-code 14/212) voor BKV verdund in BKV-negatief humaan plasma. Twintig (20) replica's van elke verdunning werden getest met elk van drie batches reagentia voor in totaal 60 replica's per verdunning. De LLoQ-resultaten voor de drie batches reagentia staan weergegeven in Tabel 6. De LLoQ die wordt gegenereerd met de eerste internationale standaard van de WHO voor BKV in plasma is 79 IE/mL (1,90 log IE/mL).

Tabel 6: Bepaling van LLoQ met behulp van de eerste internationale WHO-standaard voor BKV verdund in plasma

Reagenspartij	N	N gedetecteerd	Targetconcentratie (log IE/mL)	BKV Quant-assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	Bias (log IE/mL)	Berekende TE (log IE/mL)
1	20	20	1,90	1,95	0,19	0,2	0,5
	20	20	2,06	2,09	0,14	0,1	0,4
	20	20	2,18	2,26	0,12	0,1	0,4
	20	20	2,26	2,35	0,15	0,2	0,5
2	20	20	1,90	1,96	0,14	0,1	0,4
	20	20	2,06	2,13	0,16	0,2	0,5
	20	20	2,18	2,24	0,16	0,1	0,4
	20	20	2,26	2,35	0,14	0,1	0,4
3	20	20	1,90	1,98	0,20	0,2	0,6
	20	20	2,06	2,06	0,15	0,1	0,4
	20	20	2,18	2,27	0,09	0,1	0,3
	20	20	2,26	2,35	0,11	0,1	0,4

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

|Bias|=bias voor de waarheid $\leq 0,5$ (log IE/mL).

De verdunning die bij de LLoQ-concentratie hoort en op elke reagensbatch getest is, wordt in het grijs benadrukt weergegeven.

Ondergrens van kwantificering met behulp van de WHO-standaard in urine

De LLoQ werd bepaald door het testen van panels van de eerste internationale standaard van de WHO (NIBSC-code 14/212) voor BKV verdund in BKV-negatief, menselijke urine. Twintig (20) replica's van elke verdunning werden getest met elk van drie batches reagentia voor in totaal 60 replica's per verdunning. De LLoQ-resultaten voor de drie batches reagentia staan weergegeven in Tabel 7. De LLoQ die wordt gegenereerd met de eerste internationale standaard van de WHO voor BKV in urine is 162 IE/mL (2,21 log IE/mL).

Tabel 7: Bepaling van LLoQ met behulp van de eerste internationale WHO-standaard voor BKV verdund in urine

Reagenspartij	N	N gedetecteerd	Targetconcentratie (log IE/mL)	BKV Quant-assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	Bias (log IE/mL)	Berekende TE (log IE/mL)
1	20	20	2,21	2,09	0,24	0,2	0,7
	20	20	2,26	2,15	0,20	0,2	0,5
	20	20	2,30	2,15	0,23	0,2	0,7
	20	20	2,38	2,27	0,20	0,2	0,6
2	20	20	2,21	1,98	0,22	0,2	0,7
	20	20	2,26	2,14	0,27	0,2	0,7
	20	20	2,30	2,23	0,20	0,2	0,6
	20	20	2,38	2,27	0,25	0,2	0,7
3	20	20	2,21	1,97	0,24	0,3	0,7
	20	20	2,26	2,03	0,22	0,3	0,7
	20	20	2,30	2,08	0,18	0,2	0,6
	20	20	2,38	2,13	0,23	0,3	0,7

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

|Bias|=bias voor de waarheid $\leq 0,5$ (log IE/mL).

De verdunning die bij de LLoQ-concentratie hoort en op elke reagensbatch getest is, wordt in het grijs benadrukt weergegeven.

Bevestiging van de ondergrens van kwantificering van BKV-genotypen

Ondergrens van kwantificering van genotypen in plasma

De LLoQ die werd vastgesteld met behulp van de WHO-standaard, werd beoordeeld door het testen van BKV-genotypes I (1b-2) en IV met een piek van 3x de LLoQ in BKV-negatief humaan plasma. Drie replica's van elk panellid werden getest met één reagensbatch. De resultaten staan vermeld in Tabel 8.

Tabel 8: Bevestiging van LLoQ over genotypen in plasma

Isoleren (genotype)	N	N gedetecteerd	Targetconcentratie (log IE/mL)	BKV Quant-assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	Bias (log IE/mL)
Genotype I (1b-2)	3	3	2,37	2,59	0,08	0,2
Genotype IV	3	3	2,37	2,25	0,05	0,1

SD=standaarddeviatie.

Ondergrens van kwantificering van genotypen in urine

De LLoQ die werd vastgesteld met behulp van de WHO-standaard, werd beoordeeld door verdunningen van BKV-genotypen I (1b-2) en IV te testen in BKV-negatief, menselijk urine. Drie replica's van elk panellid werden getest met één reagensbatch. De resultaten staan vermeld in Tabel 9.

Tabel 9: Bevestiging van LLoQ over genotypen in urine

Isoleren (genotype)	N	N gedetecteerd	Targetconcentratie (log IE/mL)	BKV Quant-assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	Bias (log IE/mL)
Genotype I (1b-2)	3	3	2,69	2,43	0,27	0,0
Genotype IV	3	3	2,69	2,57	0,16	0,2

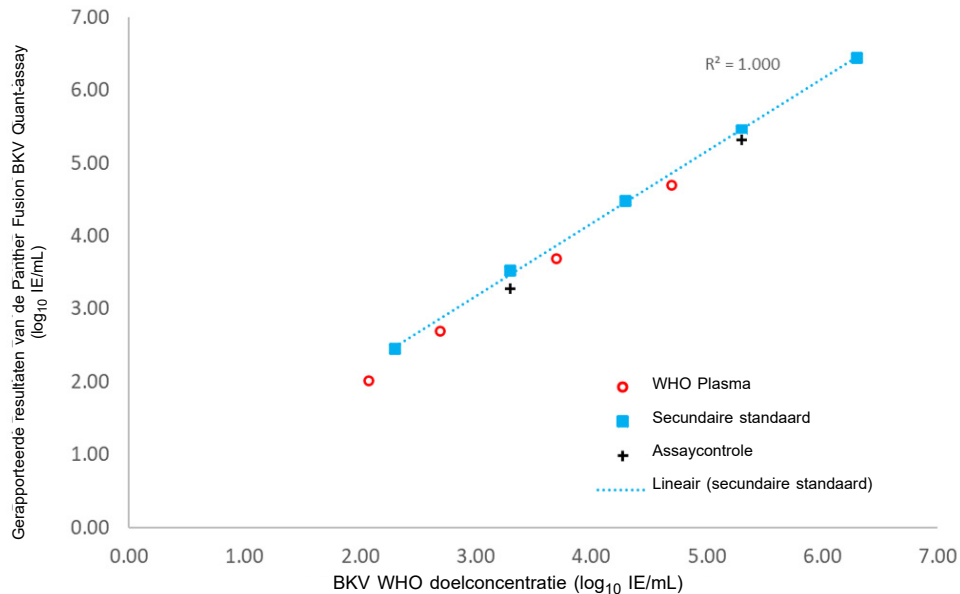
SD=standaarddeviatie.

Traceerbaarheid tot de eerste internationale standaard van de WHO

Een reeks secundaire standaarden met bekende concentraties werden gebruikt tijdens de productontwikkeling en productproductie om traceerbaarheid naar de WHO-standaard vast te stellen. De BKV eerste WHO-standaard werd verdund en getest samen met de secundaire standaarden, evenals testcontroles en kalibrators die werden gebruikt in de Panther Fusion BKV Quant-assay om de traceerbaarheid te evalueren volgens CLSI EP32-R.⁹ De secundaire standaarden varieerden in concentratie van 2,30 t/m 6,30 log₁₀ IE/mL.

Traceerbaarheid naar de WHO-standaard met behulp van plasma

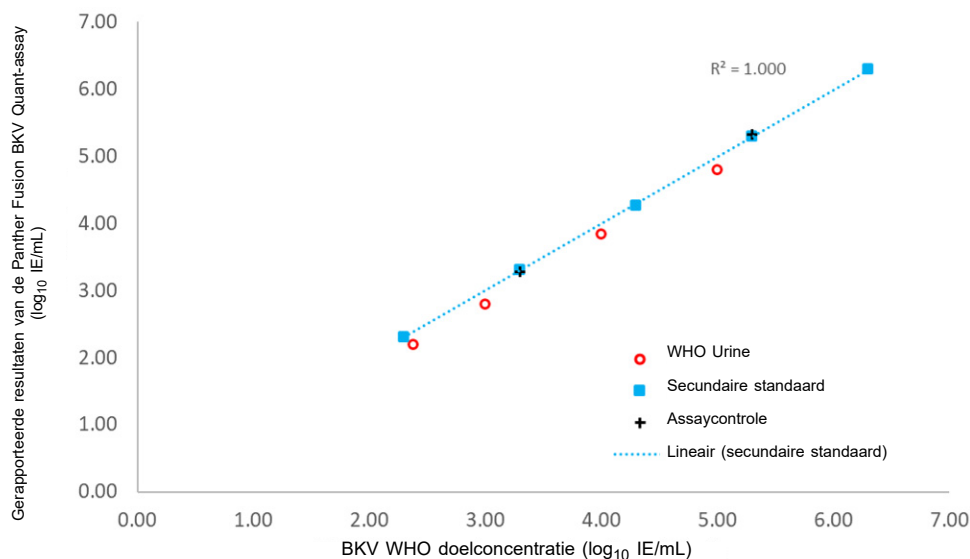
De geteste concentraties voor de BKV eerste WHO-standaard lagen tussen 2,07 en 4,70 log IE/mL. De WHO-plasmapanelen, secundaire standaarden, testcontroles en testkalibrators herstelden zoals verwacht over het lineaire bereik van de test, zoals te zien is op Afbeelding 5.



Afbeelding 5. Traceerbaarheid tussen de BKV eerste WHO-standaard doelconcentraties en gerapporteerde concentraties in de Panther Fusion BKV Quant-assay (WHO-standaard verdund in plasma)

Traceerbaarheid naar de WHO-standaard met behulp van urine

De geteste concentraties voor de BKV eerste WHO-standaard in urine waren tussen 2,38 en 5,00 log₁₀ IE/mL. De WHO-urinepanels, secundaire standaarden, testcontroles en testkalibrators herstelden zoals verwacht over het lineaire bereik van de test, zoals te zien is in Afbeelding 6.



Afbeelding 6. Traceerbaarheid tussen de BKV eerste WHO-standaard doelconcentraties en gerapporteerde concentraties in de Panther Fusion BKV Quant-assay (WHO-standaard verdund in urine)

Binnen Laboratoriumprecisie

Urine

Om binnen laboratoriumprecisie te beoordelen, werden een negatief panel en een 3-lid panel gemaakt door BKV-DNA te verdunnen in BKV-negatieve urine. De positieve en negatieve panels werden gedurende 6 niet-oplopende testdagen getest door 2 laboranten met behulp van 3 reagensbatches op 3 Panther Fusion-systemen. Elke laborant voerde 2 runs per dag uit en elk panellid werd in elke run in drievoud getest. Het onderzoek is opgezet en geanalyseerd volgens de aanbevelingen van CLSI EP-05-A3.¹⁰

Tabel 10 toont de reproduceerbaarheid van testresultaten (in log IE/mL) voor het positieve panel tussen instrumenten, laboranten, cartridgebatches, runs, dagen, binnen runs en algemeen. De totale variabiliteit was voornamelijk het gevolg van variabiliteit binnen de runs (d.w.z. willekeurige fout). Alle replica's van het negatieve panel waren negatief.

Tabel 10: Reproduceerbaarheid van de Panther Fusion BKV Quant-assay in urine

N	Gemiddelde concentratie (log IE/mL)	Inter-Lot [Batch]	Tussen instrument	Tussen gebruikers	Inter-Dag	Inter-Run	intra-Run	Totaal
		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=standaarddeviatie.

Potentieel storende stoffen

De gevoeligheid van de Panther Fusion BKV Quant-assay voor interferentie door verhoogde niveaus van endogene stoffen, anticoagulantia en geneesmiddelen die vaak worden voorgeschreven aan transplantatiepatiënten, werd geëvalueerd in BKV-negatieve matrices in aanwezigheid of afwezigheid van 2,37 log IE/mL en 2,69 log IE/ mL BKV in respectievelijk plasma en urine. De testconcentraties voor elk van de storende stoffen zijn geselecteerd op basis van beschikbare literatuurreferenties en richtlijnen van CLSI EP07¹¹ en EP37.¹²

Er werd geen interferentie met de nauwkeurigheid van de kwantificering waargenomen in plasma of in urinespecimens in aanwezigheid van potentieel storende stoffen vermeld in Tabel 11 en Tabel 12.

Tabel 11: Endogene plasmastoffen

Mogelijk storende stof	Aantal replica's	Geteste concentratie
Albumine	3	6000 mg/dL
Geconjugeerd bilirubine	3	40 mg/dL
Hemoglobine	3	10 mg/dL
Menselijk genomisch DNA	3	0,2 mg/dL
Triglyceriden	3	3,45 mg/dL
Ongeconjugeerd bilirubine	3	40 mg/dL

Tabel 12: Endogene stoffen in urine

Mogelijk storende stof	Aantal replica's	Geteste concentratie
Albumine	3	6000 mg/dL
Geconjugeerd bilirubine	3	40 mg/dL
Oestradiol	3	8E-05 mg/dL
Glucose	3	200 mg/dL
Mucine	3	6 mg/dL
Perifere mononucleaire bloedcellen	3	1E+06 cellen/mL
pH, zuur (HCl)	3	2 mM
pH, alkalisch (NaOH)	3	0,2 mM
Sperma	3	5%
Volbloed	3	2%

Er werd geen interferentie met de nauwkeurigheid van de kwantificering waargenomen in de aanwezigheid van de exogene stoffen vermeld in Tabel 13 en Tabel 14.

Tabel 13: Exogene stoffen voor plasma

Mogelijk storende stof	Aantal replica's	Geteste concentratie
Aciclovir	3	6,6 mg/dL
Azathioprine	3	0,258 mg/dL
Cefotetan	3	71,1 mg/dL
Cidofovi	3	12,4 mg/dL
Clavulanaatkalium	3	1,47 mg/mL
Cyclosporine	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
Micafungine	3	6,6 mg/dL
Mycofenolaatmofetil	3	18,1 mg/dL
Mycofenolaatmofetil-gerelateerde verbinding B	3	18,1 mg/dL
Naproxen	3	36 mg/dL
Piperacilline	3	110 mg/dL
Prednison	3	0,0099 mg/dL
Sirolimus	3	0,0213 mg/dL
Sulfamethoxazol	3	35,7 mg/dL
Tacrolimus	3	0,0144 mg/dL
Tazobactam-natrium	3	10,2 mg/dL
Ticarcillinedinatrium	3	151 mg/dL
Trimethoprim	3	4,2 mg/dL
Valganciclovir	3	4,83 mg/dL
Vancomycine	3	12 mg/dL

Tabel 14: Exogene stoffen voor urine

Mogelijk storende stof	Aantal replica's	Geteste concentratie
Paracetamol	3	3 mg/dL
Acetylsalicylzuur	3	3 mg/dL
Clotrimazol	3	0,5 mg/dL
Ibuprofen	3	21,9 mg/dL
Metronidazol	3	12,3 mg/dL
Naproxen	3	36 mg/dL
Fenazopyridinehydrochloride	3	79,5 mg/dL
Propyleenglycol	3	130 mg/dL
Talk	3	5 mg/dL

Analytische specificiteit

Potentiële kruisreactiviteit met de pathogenen vermeld in Tabel 15 werd geëvalueerd in BKV-negatieve matrices in aanwezigheid of afwezigheid van respectievelijk 2,37 log IE/mL en 2,69 log IE/mL BKV in plasma en urine. Pathogenen werden getest in de hoogst beschikbare concentratie. Er werd geen kruisreactiviteit of interferentie in de nauwkeurigheid van de kwantificering waargenomen.

Tabel 15: Pathogenen getest op analytische specificiteit

Micro-organisme/pathogeen	Concentratie	Micro-organisme/pathogeen	Concentratie
ADV-5	1,00E+05 TCID ₅₀ /mL	Menselijk herpesvirus 7	1,00E+03 TCID ₅₀ /mL
<i>Aspergillus niger</i>	1,00E+06 CFU/mL	Menselijk 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	Humaan parvovirus B19	1,00E+05 IE/mL
CMV	1,00E+05 cp/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06 CFU/mL
EBV	1,00E+05 cp/mL	<i>Salmonella enterica</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Enterococcus faecium</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,00E+06 CFU/mL

Tabel 15: Pathogenen getest op analytische specificiteit (vervolgd)

Micro-organisme/pathoogeen	Concentratie	Micro-organisme/pathoogeen	Concentratie
HBV	1,00E+05 IE/mL	<i>Streptococcus bovis</i>	1,00E+06 CFU/mL
HCV	1,00E+04 IE/mL	<i>Streptococcus oralis</i>	1,00E+06 CFU/mL
HIV-1	1,00E+05 IE/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/mL
HIV-2	1,00E+04 IE/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 Trofozoïeten/mL
HSV-2	1,00E+04 TCID ₅₀ /mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1,00E+06 cp/mL
HPV-16 (SiHa-cellen geïnficeerd)	1,00E+05 cellen/mL	Varicella-zostervirus	1,00E+05 cp/mL
Menselijk herpesvirus 6	1,00E+05 cp/mL	—	—

CCU/mL = koloniewisseeenheden/mL

KVE/ml = kolonievormende eenheden per mL.

cp/mL = virale kopieën per mL.

IFU/mL = insluitvormende eenheden per mL.

IE/mL = Internationale eenheden per mL.

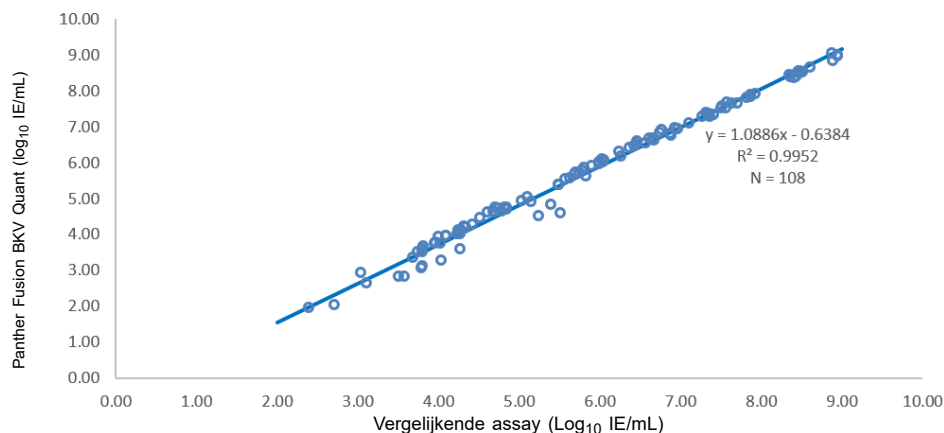
TCID₅₀/mL = infectieuze dosiseenheden voor weefselkweek per mL.

Correlatie van methoden

Dit onderzoek is opgezet conform CLSI EP09c.¹³

Correlatie plasmamethode

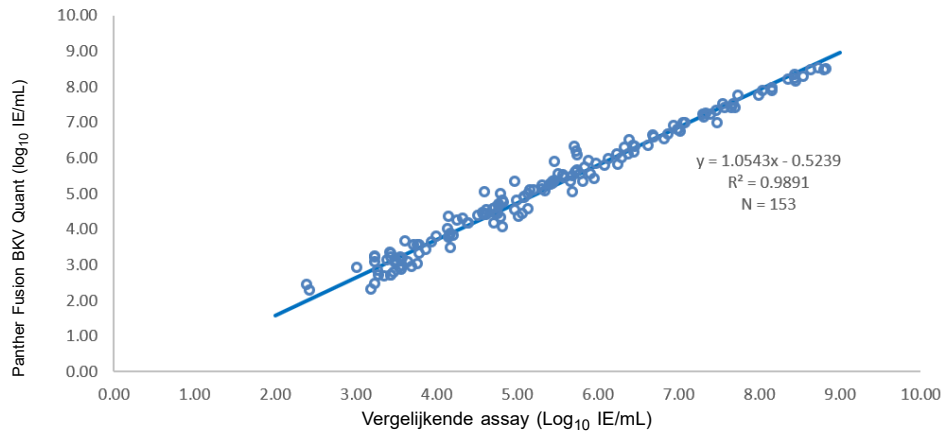
De prestaties van de Panther Fusion BKV Quant-assay werden beoordeeld aan de hand van een vergelijkende assay door retrospectief verzamelde specimens en geconstrueerde specimens te testen die het gehele lineaire bereik bestrijken. Een totaal van 108 specimens binnen het lineaire bereik dat beide assays gemeen hebben, werden gebruikt voor de Deming-regressie, zoals weergegeven in Afbeelding 7.



Afbeelding 7. Correlatie tussen BKV-virale belasting in de Panther Fusion BKV Quant-assay en een vergelijkende assay voor het testen van plasmaspecimens

Correlatie urinemethode

De prestaties van de Panther Fusion BKV Quant-assay werden beoordeeld aan de hand van een vergelijkende assay door retrospectief verzamelde specimens en geconstrueerde specimens te testen die het gehele lineaire bereik bestrijken. Een totaal van 153 specimens binnen het lineaire bereik dat beide assays gemeen hebben, werden gebruikt voor de Deming-regressie, zoals weergegeven in Afbeelding 8.



Afbeelding 8. Correlatie tussen BKV-virale belasting in de Panther Fusion BKV Quant-assay en een vergelijkende assay voor het testen van Urinespecimens

Overdracht/kruisbesmetting

De overdracht werd beoordeeld met behulp van hoge titer BKV-spiked STM-specimens (1,00E+09 IE/mL) afgewisseld tussen BKV-negatieve specimens in een dambordpatroon. Er werd getest over 5 runs. Het algehele vermengingspercentage was 0,00% (0/150).

Literatuur

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

Contactgegevens



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



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

Adres van Australische sponsor:
Hologic (Australië & Nieuw-Zeeland) Pty Ltd
Macquarie Park, NSW 2113

Ga voor landspecifieke technische ondersteuning en klantenservice, e-mailadres en telefoonnummer naar www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther en Panther Fusion en bijbehorende logo's zijn handelsmerken en/of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of zijn dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen.

Quasar is een gedeponeerd handelsmerk en is in licentie gegeven door Biosearch Technologies, Inc.

Alle andere handelsmerken in deze bijsluiters zijn eigendom van de respectieve eigenaars ervan.

Dit product is mogelijk beschermd door een of meer Amerikaanse octrooien vermeld op www.hologic.com/patents.

©2022 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-26020-1501 Versie 001
2022–05