

EBV Quant Assay (Panther Fusion® System)

Para su uso diagnóstico *in vitro*

Para exportación de EE. UU. solamente

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| Información general | 2 |
| Usado previsto | 2 |
| Resumen y explicación de la prueba | 2 |
| Principios del procedimiento | 2 |
| Advertencias y precauciones | 3 |
| Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos | 6 |
| Recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas | 7 |
| Muestras conservadas en el Panther Fusion System | 8 |
| Transporte de muestras | 8 |
| Panther Fusion System | 9 |
| Reactivos y materiales suministrados para el Panther Fusion EBV Quant Assay ... | 9 |
| Material necesario y disponible por separado | 10 |
| Materiales opcionales | 11 |
| Procedimiento de prueba del Panther Fusion System | 11 |
| Notas de procedimiento | 13 |
| Control de calidad | 14 |
| Calibración del ensayo | 14 |
| Controles negativo y positivo | 14 |
| Control interno | 14 |
| Interpretación de resultados | 15 |
| Limitaciones | 16 |
| Rendimiento | 17 |
| Límite de detección utilizando la 1. ^a norma internacional de la OMS | 17 |
| Rango lineal | 17 |
| Límite inferior de cuantificación de detección utilizando la 1. ^a norma internacional de la OMS | 18 |
| Confirmación del límite inferior de cuantificación en distintos genotipos de EBV ... | 19 |
| Rastreabilidad con respecto a la 1. ^a norma internacional de la OMS | 20 |
| Precisión intralaboratorio | 21 |
| Sustancias potencialmente interferentes | 21 |
| Especificidad analítica | 23 |
| Correlación de métodos | 23 |
| Arrastre/contaminación cruzada | 24 |
| Bibliografía | 25 |
| Información de contacto e historial de revisiones | 26 |

Información general

Uso previsto

El Panther Fusion® EBV Quant Assay es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* totalmente automatizada que utiliza PCR en tiempo real (RT-PCR) para cuantificar el DNA del virus de Epstein-Barr (EBV, por sus siglas en inglés) en muestras humanas de plasma con EDTA.

El Panther Fusion EBV Quant Assay está concebido para utilizarse como apoyo en el diagnóstico y el abordaje de pacientes receptores de trasplante de vísceras macizas o de hemocitoblastos.

El Panther Fusion EBV Quant Assay no está concebido para utilizarse como un ensayo de cribado para la presencia de EBV en la sangre o hemoderivados. El ensayo se ha diseñado para su uso en el Panther Fusion System.

Resumen y explicación de la prueba

El EBV es un virus de DNA bicatenario lineal con una longitud de 172 kb que pertenece a la familia de los herpesvirus y se encuentra ampliamente distribuido. Hay dos genotipos principales de EBV que se identifican por sus diferencias en el gen EBNA-2: el tipo 1 y el tipo 2.

Tras la primoinfección, el EBV infecta los linfocitos B circulantes y permanece en un estado latente a partir de ahí. Se estima que el 90 % de la población mundial está infectada por el EBV.¹ En personas con una adecuada función inmunitaria, la infección por EBV puede ser asintomática durante la niñez. Sin embargo, la infección por EBV puede ocasionar mononucleosis infecciosa² en adultos y está asociada con distintos tipos de cáncer: linfomas malignos, leucemias, neoplasias malignas epiteliales y cáncer estomacal.³

En personas inmunodeprimidas, como los pacientes receptores de trasplante y personas infectadas con el virus de inmunodeficiencia humana (HIV), la reactivación del EBV puede causar linfoproliferación maligna y es una causa importante de morbilidad y mortalidad. La mayoría de los tumores relacionados con el EBV, conocidos como enfermedad linfoproliferativa postrasplante (ELP), suele aparecer en el año siguiente a un trasplante.³

La realización de pruebas cuantitativas de amplificación de ácidos nucleicos a partir de muestras de sangre completa o plasma es el método preferente para monitorizar la infección y enfermedad causada por el EBV en pacientes receptores de trasplante debido a que es rápido, sensible, práctico y no es invasivo. Las directrices recientes recomiendan hacer un seguimiento semanal de la carga vírica del EBV como apoyo para decidir si se empieza el tratamiento anti-EBV y llevar un control de la respuesta a este.⁴

En general, los valores más altos de carga vírica se relacionan con un mayor riesgo de presentar enfermedades relacionadas con el EBV.⁵ Por lo tanto, cuantificar el DNA del EBV y hacer un seguimiento de la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio es esencial en el abordaje de los pacientes con infección por EBV.

Principios del procedimiento

El Panther Fusion System automatiza íntegramente el procesamiento de muestras, tales como lisis celular, captura de ácido nucleico, amplificación y detección para el Panther Fusion EBV Quant Assay. El Panther Fusion EBV Quant Assay tiene como diana el gen muy conservado EBNA-1 para garantizar una cuantificación exacta del DNA del EBV. El ensayo cumple la 1.^a norma internacional de la OMS sobre el BKV (código NIBSC: 09/260).⁶

Captura de ácido nucleico y procesamiento de muestras: Se añade automáticamente un control interno (IC-B) a cada muestra a través del reactivo de trabajo de captura Fusion Capture Reagent-B (wFCR-B) para buscar interferencias durante el procesamiento, la amplificación y la detección de muestras que puedan resultar del fallo del reactivo o de las sustancias inhibitorias. En primer lugar, las muestras se añaden al Fusion Capture Reagent-B (FCR-B) y al reactivo potenciador Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) a fin de liberar el ácido nucleico para la hibridación mediante partículas magnéticas. A continuación, las partículas de captura se separan de la matriz de muestra residual en un campo magnético mediante una serie de pasos de lavado con un detergente suave. El ácido nucleico capturado se eluye entonces de las partículas magnéticas mediante un reactivo de baja fuerza iónica (Panther Fusion Elution Buffer [tampón de elución Panther Fusion]).

Nota: el Panther Fusion System agrega el IC-B al FCR-B. Después de agregar el IC-B al FCR-B, se denomina wFCR-B.

Amplificación PCR y detección de fluorescencia: La mezcla maestra PCR de dosis única liofilizada se reconstituye con el tampón de reconstitución Panther Fusion Reconstitution Buffer I y se combina con el ácido nucleico de elución en un tubo de reacción. Se añade reactivo de aceite Panther Fusion Oil Reagent para evitar la evaporación durante la reacción de la PCR. La amplificación de diana basada en PCR posteriormente se produce con cebadores directo e inverso específicos de la diana y una sonda que generan una señal de fluorescencia.

El Panther Fusion System ofrece un valor Ct proporcional a la concentración del EBV en las muestras del análisis. El software del Panther Fusion System determina la concentración de la muestra utilizando los valores Ct del EBV correspondientes a cada reacción y comparándolos con la curva de calibración. Los resultados del EBV se muestran en UI/mL y \log_{10} UI/mL para muestras de plasma. Las dianas y los canales utilizados para su detección en el Panther Fusion System se resumen en la siguiente tabla:

| Diana | Gen diana | Canal del instrumento |
|-----------------|--------------|-----------------------|
| EBV | EBNA-1 | HEX |
| Control interno | No aplicable | Quasar® 705 |

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profesional.
- C. Lea minuciosamente todo el prospecto y el *Manual de usuario del Panther®/Panther Fusion System* antes de efectuar este ensayo.
- D. El Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) es corrosivo, nocivo si se ingiere y provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares.
- E. Estos procedimientos solo deben realizarlos personal formado adecuadamente en el uso de este ensayo y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún vertido, desinfecte inmediatamente siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- F. Las muestras pueden ser infecciosas. Tome las precauciones universales al realizar este ensayo. El director del laboratorio debe establecer métodos de manipulación y eliminación adecuados. Solo se debe permitir la realización de este procedimiento de diagnóstico al personal con la formación necesaria en manipulación de materiales infecciosos.⁷

- G. Tome las precauciones habituales del laboratorio. No pipetee con la boca. No coma, beba ni fume en las áreas de trabajo designadas. Utilice guantes desechables sin polvo, gafas protectoras y batas de laboratorio al manipular muestras y reactivos. Lávese las manos cuidadosamente después de manipular las muestras y los reactivos.
- H. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- I. Las superficies de trabajo, pipetas y otros equipos se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M).
- J. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y reactivos siguiendo las normas regionales, nacionales e internacionales vigentes.
- K. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar su integridad. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- L. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles al aflojar o destapar los tubos de muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de virus u otros microorganismos. Asegúrese de que los recipientes de especímenes no entren en contacto unos con otros, y deseche los materiales usados sin hacerlos pasar por los recipientes abiertos. Cambie de guantes si entran en contacto con los especímenes.
- M. No utilice los reactivos, los calibradores ni los controles tras su fecha de caducidad.
- N. Guarde los componentes del ensayo bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas. Consulte los *Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos* y *Procedimiento de prueba del Panther Fusion System* para obtener más información.
- O. No combine los reactivos ni los fluidos del ensayo. No rellene los reactivos ni los fluidos; el Panther Fusion System verifica los niveles de reactivo.
- P. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.
- Q. Los requisitos de control de calidad deben seguir las normativas locales, regionales o nacionales o los requisitos de acreditación, además de los procedimientos estándar de control de calidad de su laboratorio.
- R. No utilice el cartucho de ensayo si la bolsa de almacenamiento ha perdido su sello o si la película del cartucho de ensayo no está intacta. En cualquiera de los dos casos, póngase en contacto con la asistencia técnica de Hologic.
- S. No use paquetes de fluidos si el sello de aluminio no está intacto. Si esto sucede, contacte con la asistencia técnica de Hologic.
- T. Manipule los cartuchos de ensayo con cuidado. No deje caer ni dé la vuelta a los cartuchos de ensayo. Evite la exposición prolongada a la luz ambiente.

U. Algunos reactivos de este kit están etiquetados con símbolos de riesgo y seguridad.

Nota: la comunicación sobre peligros refleja las clasificaciones de las fichas de seguridad (SDS) de la UE. Para obtener información sobre la comunicación de riesgos específica de su región, consulte la hoja de datos de seguridad concreta de su zona en la biblioteca de hojas de datos de seguridad en www.hologicsds.com. Para obtener más información sobre los símbolos, consulte la leyenda de los símbolos en www.hologic.com/package-inserts.

| Información sobre peligros de la UE | |
|---|---|
| — | <p>Cartucho Panther Fusion EBV Quant Assay ALFA-CICLODEXTRINA al 20 %-25 %</p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p> |
| — | <p>Reactivo de captura Panther Fusion B (FCR-B) HEPES al 15-20 % SAL DE LITIO DE LAURIL SULFITO AL 10-15 % ÁCIDO SUCCÍNICO AL 1-5 % HIDRÓXIDO DE LITIO MONOHIDRATADO AL 1-5 %</p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p> |
|   | <p>Reactivo potenciador Panther Fusion B (FER-B) HIDRÓXIDO DE LITIO MONOHIDRATADO AL 5 %-10 %</p> <p>PELIGRO</p> <p>H302 - Nocivo en caso de ingestión. H314 - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P264 - Lavarse la cara, las manos y las áreas de la piel expuestas concienzudamente tras la manipulación. P270 - No comer, beber ni fumar durante su utilización. P330 - Enjuagarse la boca. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. P260 - No respirar el polvo/ el humo/ el gas/ la niebla/ los vapores/ el aerosol. P280 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P301 + P330 + P331 - EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagar la boca. NO provocar el vómito. P303 + P361 + P353 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua [o ducharse]. P304 + P340 - EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. P305 + P351 + P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado. P310 - Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico. P321 - Se necesita un tratamiento específico (ver las instrucciones adicionales de primeros auxilios en esta etiqueta). P363 - Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas. P405 - Guardar bajo llave.</p> |

Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos

A. La siguiente tabla indica los requisitos de almacenamiento y manipulación de este ensayo.

| Reactivo | Almacenamiento del reactivo cerrado | Estabilidad en el instrumento/ una vez abierto ¹ | Almacenamiento una vez abierto |
|---|-------------------------------------|---|--------------------------------|
| Cartucho Panther Fusion EBV Quant Assay Cartridge | Entre 2 °C y 8 °C | 60 días | Entre 2 °C y 8 °C ² |
| Panther Fusion Capture Reagent-B (FCR-B) | Entre 15 °C y 30 °C | 30 días | Entre 15 °C y 30 °C |
| Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) | Entre 15 °C y 30 °C | 30 días | Entre 15 °C y 30 °C |
| Control interno Panther Fusion Internal Control-B (IC-B) | Entre 2 °C y 8 °C | (En wFCR-B) | No aplicable |
| Tampón de elución Panther Fusion | Entre 15 °C y 30 °C | 60 días | Entre 15 °C y 30 °C |
| Aceite Panther Fusion | Entre 15 °C y 30 °C | 60 días | Entre 15 °C y 30 °C |
| Tampón de reconstitución Panther Fusion I | Entre 15 °C y 30 °C | 60 días | Entre 15 °C y 30 °C |
| Calibradores Panther Fusion EBV Quant Calibrators (1-5) | Entre -15 °C y -35 °C | Vial de un solo uso | No aplicable; un solo uso |
| Control positivo alto Panther Fusion EBV-BKV High Positive Control | Entre -15 °C y -35 °C | Vial de un solo uso | No aplicable; un solo uso |
| Control positivo bajo Panther Fusion EBV-BKV Quant Low Positive Control | Entre -15 °C y -35 °C | Vial de un solo uso | No aplicable; un solo uso |
| Control negativo de trasplante Panther Fusion Transplant Negative Control (III) | Entre -15 °C y -35 °C | Vial de un solo uso | No aplicable; un solo uso |

Quando se extraen los reactivos del sistema Panther Fusion, estos deben volver de inmediato a las temperaturas de almacenamiento adecuadas.

¹ La estabilidad en el instrumento comienza en el momento en que el reactivo se coloca en el Panther Fusion System para el Panther Fusion EBV Quant Assay Cartridge, FCR-B, FER-B e IC-B. La estabilidad en el instrumento comienza para el Panther Fusion Reconstitution Buffer I, el Panther Fusion Elution Buffer y el Panther Fusion Oil Reagent cuando se utiliza por primera vez el paquete de reactivo.

² Si se retira el cartucho de ensayo del sistema Panther Fusion, guardarlo en un recipiente hermético con desecante a la temperatura de almacenamiento recomendada.

B. El Working Panther Fusion Capture Reagent-B (wFCR-B) y el Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) son estables durante 60 días cuando están tapados y se almacenan entre 15 °C y 30 °C. No lo refrigere.

C. Se debe desechar cualquier reactivo sin usar que supere su estabilidad.

D. Evite la contaminación cruzada durante el almacenamiento y la manipulación del reactivo.

E. **No congele los reactivos.**

F. **No vuelva a congelar los controles ni los calibradores.**

G. Los cartuchos sin abrir, los calibradores (1-5) y los controles del EBV Quant Assay son estables durante 18 meses a partir de la fecha de fabricación cuando se conservan según las condiciones recomendadas. Consulte la fecha de caducidad en el envase.

Recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas

Muestras biológicas: material clínico recogido del paciente y colocado en un sistema de transporte adecuado. Para el Panther Fusion EBV Quant Assay, esto incluye muestras de sangre total recogidas en tubos con anticoagulantes EDTA para la preparación de muestras de plasma o tubos de preparación de plasma (PPT).

Muestras: representa un término más general que describe cualquier material que se analice en el sistema Panther Fusion (por ejemplo, especímenes, calibradores y controles).

Nota: manipule todas las muestras como si contuvieran agentes posiblemente infecciosos. Respete las precauciones universales.

Nota: tenga cuidado de evitar la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Por ejemplo, deseche el material usado sin hacerlo pasar sobre tubos abiertos.

Nota: para la conservación de las muestras, solo se recomiendan tubos secundarios de plástico.

A. Recogida de especímenes

Para preparar plasma, pueden utilizarse muestras de sangre completa recogidas en los tubos de cristal o plástico siguientes:

- Tubos con anticoagulantes EDTA
- Tubos de preparación de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT)

B. Procesamiento de especímenes

1. Plasma: La sangre completa puede conservarse entre 2 °C y 30 °C y debe centrifugarse en las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras. Es posible preparar el plasma a partir de tubos primarios de PPT o con EDTA. Separe el plasma del sedimento de eritrocitos siguiendo las instrucciones del fabricante del tubo utilizado. El plasma puede analizarse en el Panther Fusion System en un tubo primario o transferirse a un tubo secundario como el tubo de alícuotas de muestras Aptima® (SAT).

Para garantizar un volumen adecuado de muestra, consulte la siguiente tabla:

Tabla 1: Volumen mínimo de muestra

| Tubo (tamaño y tipo) | Volumen mínimo para 1 réplica |
|--|-------------------------------|
| Tubo de alícuotas de muestras (Specimen Aliquot Tube, SAT) Aptima. | 0,6 mL |
| 12x75 mm | 0,9 mL |
| 13 × 100 mm | 0,9 mL |
| 13x100 mm con gel | 0,7 mL |
| 16 × 100 mm con gel | 1,1 mL |

Si no se analiza inmediatamente, el plasma puede conservarse de acuerdo con las especificaciones definidas en las *Condiciones de conservación de las muestras*. Si se transfirió a un tubo secundario, el plasma puede congelarse a -20 °C. No congele las muestras de plasma en tubos primarios de recogida con EDTA.

C. Condiciones de conservación de las muestras

Las muestras pueden conservarse bajo las siguientes condiciones:

1. Estabilidad del plasma

- Las muestras no procesadas son estables durante 24 horas entre 2 °C y 30 °C después del centrifugado.
- Las muestras no procesadas son estables durante 5 días entre 2 °C y 8 °C después del centrifugado.
- Las muestras no procesadas y procesadas son estables durante 60 días a -20 °C.
- Las muestras congeladas también son estables durante hasta tres ciclos de congelación/descongelación.

Muestras conservadas en el Panther Fusion System

Las muestras de plasma pueden dejarse sin tapar en el Panther Fusion System durante un máximo de 8 horas. Las muestras pueden retirarse del Panther Fusion System y analizarse siempre que el tiempo total transcurrido en el instrumento no supere las 8 horas antes de que el Panther Fusion System pipetee la muestra.

Transporte de muestras

Conserve las condiciones de almacenamiento de las muestras durante el transporte según las indicaciones de la sección *Recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas*.

Nota: las muestras deben enviarse respetando las normativas de transporte regional, nacional e internacional aplicables.

Panther Fusion System

El Panther Fusion System es un sistema integrado para pruebas de ácidos nucleicos que automatiza por completo todos los pasos necesarios para realizar varios ensayos Panther Fusion, desde el procesamiento de muestras hasta la amplificación, detección y reducción de datos.

Reactivos y materiales suministrados para el Panther Fusion EBV Quant Assay

Paquete de ensayo

| Componentes | Ref. | Almacenamiento |
|---|-----------|-----------------------|
| Calibradores Panther Fusion EBV Quant Assay | | |
| PCAL 1 qEBV, 3 por caja | PRD-07159 | Entre -15 °C y -35 °C |
| PCAL 2 qEBV, 3 por caja | | |
| PCAL 3 qEBV, 3 por caja | | |
| PCAL 4 qEBV, 3 por caja | | |
| PCAL 5 qEBV, 3 por caja | | |
| Controles de ensayo Panther Fusion EBV-BKV Quant Assay Controls | | |
| Tubo HPC High Positive Control, 5 por caja | PRD-07158 | Entre -15 °C y -35 °C |
| Tubo LPC Low Positive Control, 5 por caja | | |
| Tubo NC III Transplant Negative Control, 5 por caja | | |
| Panther Fusion EBV Quant Assay Cartridge, 96 pruebas | | |
| Panther Fusion qEBV Assay Cartridge, 12 pruebas, 8 por caja | PRD-07157 | Entre 2 °C y 8 °C |
| Panther Fusion Internal Control-B, 960 pruebas | | |
| Tubo de control interno Panther Fusion B, 4 por caja | PRD-06234 | Entre 2 °C y 8 °C |
| Panther Fusion Extraction Reagent-B, 960 pruebas | | |
| Frasco de Panther Fusion Capture Reagent-B, 240 pruebas, 4 por caja | PRD-06232 | Entre 15 °C y 30 °C |
| Frasco de Panther Fusion Enhancer Reagent-B, 240 pruebas, 4 por caja | | |
| Tampón de elución Panther Fusion, 2400 pruebas | | |
| Paquete de tampones de elución Panther Fusion, 1200 pruebas, 2 por caja | PRD-04334 | Entre 15 °C y 30 °C |
| Tampón de reconstitución Panther Fusion I, 1.920 pruebas | | |
| Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 960 pruebas, 2 por caja | PRD-04333 | Entre 15 °C y 30 °C |
| Reactivo de aceite Panther Fusion, 1920 pruebas | | |
| Panther Fusion Oil Reagent, 960 pruebas, 2 por caja | PRD-04335 | Entre 15 °C y 30 °C |

Material necesario y disponible por separado

Nota: a menos que se indique lo contrario, los materiales comercializados por Hologic aparecen en la lista con su referencia.

| Material | N.º de catálogo |
|--|---|
| Panther® System | 303095 |
| Panther Fusion Module | PRD-04173 |
| Panther Fusion System | PRD-04172 |
| Panther System, desechos y fluidos continuos (Panther Plus) | PRD-06067 |
| Kit de fluidos del ensayo Aptima® (Solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima) | 303014 (1.000 pruebas) |
| Unidades multitubo (MTU) | 104772-02 |
| Juego de bolsas de desechos Panther | 902731 |
| Tapa del recipiente de desechos Panther | 504405 |
| O bien, el kit de ciclo para Panther System contiene MTU, bolsas de desechos, tapas del recipiente de desechos, fluidos del ensayo y reactivos Auto Detect* | 303096 (5000 pruebas) |
| Puntas, 1000 µL, filtradas, conductoras, desechables y detectan el nivel de líquido. <i>No todos los productos están disponibles en todas las zonas. Póngase en contacto con su representante para obtener información específica para su zona.</i> | 901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128 |
| Bandejas de tubos Panther Fusion, 1008 pruebas, 18 bandejas por caja | PRD-04000 |
| Tapones sólidos de sustitución Hologic (tapones de tubos desechables) | PRD-06720 (100 tapones por bolsa) |
| Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 al 8,25 % (de 0,7 M a 1,16 M) Consulte el <i>Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System</i> para obtener más información sobre la preparación de la solución diluida de hipoclorito de sodio. | — |
| Guantes desechables sin polvo | — |
| Cubiertas de bancos de laboratorio con revestimiento de plástico | — |
| Paños sin pelusa | — |
| Pipeteador | — |
| Puntas | — |
| Opciones para tubos de recogida primarios (con EDTA y PPT): 13 mm × 100 mm 12 mm × 75 mm 16 mm × 100 mm | — |
| Centrífuga | — |
| Agitadora vorticial | — |

* Solo necesario para ensayos Panther Aptima TMA.

Material

| Material | N.º de catálogo |
|--|-----------------|
| Opciones para el tubo secundario: | |
| 12 mm × 75 mm | — |
| 13 mm × 100 mm | — |
| 16 mm × 100 mm | — |
| Tubo de alícuotas de muestras (SAT) Aptima, paquete (100 tubos por bolsa) | FAB-18184 |
| Tapones de tubos de transporte (paquete de 100) <i>tapón para SAT</i> | 504415 |
| Diluyente de muestras Aptima | PRD-03003 |
| Kit de diluyente de muestras Aptima <i>contiene diluyente de muestras Aptima, 100 SAT y 100 tapones</i> | PRD-03478 |
| Pipetas de transferencia | — |
| Balancín para tubos | — |

Procedimiento de prueba del Panther Fusion System

Nota: consulte el Manual de usuario del Panther/Panther Fusion System para obtener más información relativa al procedimiento.

A. Preparación del área de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 %-3,5 % (de 0,35 M a 0,5 M). Deje la solución de hipoclorito de sodio en contacto con las superficies durante 1 minuto como mínimo y, a continuación, enjuague con agua desionizada (DI). No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa con una cubierta absorbente con forro de plástico para mesas de laboratorio limpia.
2. Limpie una superficie de trabajo aparte para preparar las muestras. Utilice el procedimiento descrito más arriba (paso A.1).
3. Limpie los pipeteadores que vaya a utilizar. Utilice el procedimiento de limpieza descrito más arriba (paso A.1).

B. Preparación de los calibradores y los controles

Deje que los calibradores y los controles alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes de procesarlos de la manera siguiente:

1. Saque los calibradores y los controles del almacenamiento de conservación (entre -15 °C y -35 °C) y póngalos entre 15 °C y 30 °C. Durante el proceso de descongelación, invierta suavemente cada tubo para mezclar bien su contenido. Asegúrese de que el contenido de los tubos se descongele por completo antes de utilizarlo.

Opción. Los tubos del calibrador y de los controles pueden ponerse en un balancín para tubos para mezclar bien su contenido. Asegúrese de que el contenido de los tubos se descongele por completo antes de utilizarlo.

Nota: evite que se cree *demasiada* espuma al invertir los calibradores y los controles. La espuma afecta a la detección del nivel en el Panther Fusion System.

2. Cuando el contenido de los tubos se haya descongelado, seque la parte exterior del tubo con un paño desechable limpio y seco.
3. Para evitar la contaminación, no abra los tubos.

C. Preparación de reactivos

1. Retire los frascos de IC-B, FCR-B y FER-B del lugar de almacenamiento.
2. Mezcle FCR-B hasta que las microesferas queden totalmente suspendidas. Evite que se forme espuma durante este paso.
3. Abra los frascos de IC-B, FCR-B y FER-B y deseche los tapones. Abra la puerta de TCR en el compartimento superior del sistema Panther Fusion.
4. Coloque los frascos de IC-B, FCR-B y FER-B en las posiciones adecuadas en el carrusel de TCR.
5. Cierre la puerta del TCR.

Nota: el Panther Fusion System añade el IC-B al FCR-B. Tras añadir el IC-B al FCR-B, se denomina wFCR-B (FCR-B de trabajo). Si el wFCR-B y el FER-B se retiran del sistema, utilice tapones nuevos y almacene de inmediato según las condiciones adecuadas de almacenamiento.

D. Manipulación de muestras

Nota: prepare las muestras según las instrucciones que se indican en la sección *Recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas antes de cargar las muestras en el Panther Fusion System*.

Inspeccione los tubos de muestras antes de cargarlos en la gradilla. Si un tubo de muestras contiene burbujas o tiene un volumen inferior de lo que se observa generalmente, golpee moderadamente la parte inferior del tubo para transferir el contenido al fondo.

E. Manipulación de muestras de plasma

1. Asegúrese de que las muestras procesadas en los tubos primarios o las muestras sin diluir en los tubos secundarios se hayan conservado correctamente de acuerdo con *Recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas*.
2. Asegúrese de descongelar por completo las muestras congeladas. Agite con un mezclador vórtex las muestras descongeladas de 3 a 5 segundos para mezclarlas bien.
3. Deje que las muestras alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes de procesarlas: Consulte *Muestras conservadas en el Panther Fusion System* para obtener más información sobre la conservación en el instrumento.
4. Asegúrese de que cada tubo primario o secundario contenga suficiente muestra. Consulte la Tabla 1 para ver el volumen mínimo de muestra para 1 réplica.
5. Justo antes de cargar las muestras en una gradilla, centrifugue cada muestra entre 1000 y 3000g durante 10 minutos. No retire los tapones en este paso.

Consulte el paso F.2 que se encuentra más adelante para obtener información sobre la carga de la gradilla y la retirada de los tapones.

F. Preparación del sistema

1. Para obtener instrucciones sobre cómo configurar el Panther Fusion System, incluida la carga de muestras, reactivos, cartuchos de ensayo y fluidos universales, consulte el *Manual de usuario del Panther/Panther Fusion System* y las *Notas de procedimiento*.

2. Cargue las muestras en la gradilla de muestras. Lleve a cabo los pasos siguientes para cada tubo de muestras (muestra y, cuando sea necesario, calibradores y controles).
 - a. Afloje el tapón de un tubo de muestras, pero no lo retire aún.

***Nota:** tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles. Afloje suavemente los tapones de los tubos de muestras.*
 - b. Cargue el tubo de muestras en la gradilla de muestras.
 - c. Repita los pasos 2.a y 2.b para cada muestra restante.
 - d. Una vez cargadas las muestras en la gradilla de muestras, retire y deseche los tapones de todos los tubos de muestras de una gradilla de muestras. Para evitar la contaminación, no pase ningún tapón sobre otras gradillas de muestras o tubos de muestras.
 - e. Si es necesario, utilice una pipeta de transferencia desechable nueva para eliminar las burbujas y la espuma. La presencia de burbujas en el tubo afecta a la detección del nivel por parte del Panther Fusion System.
 - f. Cuando haya retirado el último tapón, cargue la gradilla de muestras en un compartimento de muestras.

***Nota:** antes de cargar la gradilla de muestras en un compartimento de muestras, fije el retén de las muestras si está procesando otros ensayos y tipos de muestras al mismo tiempo.*
 - g. Repita los pasos 2.a al 2.f con la siguiente gradilla de muestras.

Notas de procedimiento

A. Calibradores y controles

1. Los calibradores qEBV (5 tubos), el EBV-BKV low positive control (LPC), EBV-BKV high positive control (HPC) y los tubos de Transplant negative control (NC III) se pueden cargar en cualquier posición en la gradilla de muestras y en cualquier carril del compartimento de muestras en el Panther Fusion System. El pipeteo de los calibradores y controles empezará cuando las muestras de EBV se hayan cargado en el sistema. El pipeteo de las muestras comenzará cuando se cumpla una de las dos siguientes condiciones:
 - a. El sistema esté procesando actualmente los calibradores y los controles.
 - b. Se registran resultados válidos para los calibradores y los controles en el sistema.
2. Después de que los tubos de los calibradores y los controles hayan sido pipeteados y estén siendo procesados para el Panther Fusion EBV Quant Assay, se pueden analizar las muestras. Los resultados de la calibración son válidos durante 60 días y los resultados del control son válidos hasta máximo 30 días (un administrador configura la frecuencia) **a menos que:**
 - a. Los resultados del calibrador no sean válidos.
 - b. Los resultados de los controles no sean válidos.
 - c. El usuario solicite analizar nuevos controles o calibradores en el software del Panther Fusion System.
3. Es necesario efectuar una calibración para cada nuevo lote de cartuchos de ensayo que se cargue en el Panther Fusion System antes de usarlo para procesar muestras.
4. Cada tubo de calibrador y de control se puede usar una sola vez.

Control de calidad

Calibración del ensayo

Para generar resultados válidos, el ensayo debe calibrarse. Se procesan por triplicado los cinco calibradores positivos cada vez que se carga un nuevo lote de cartuchos de ensayo en el Panther Fusion System. Una vez establecida la calibración del ensayo, será válida durante un máximo de 60 días. El software del Panther Fusion System avisa al usuario cuando hay que realizar una calibración.

Durante el procesamiento, el software del Panther Fusion verifica automáticamente la validez de la curva de calibración. Si la calibración no supera las comprobaciones de validez, el Panther Fusion System invalida automáticamente las muestras afectadas y exige que se analice un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de pipetear nuevas muestras.

Como configuración predeterminada, el ensayo procesará las muestras como plasma sin diluir.

Controles negativo y positivo

Para generar resultados válidos, debe analizarse un conjunto de controles del ensayo. Una réplica del NC III (control negativo de trasplante), del LPC (control positivo bajo) y del HPC (control positivo alto) debe analizarse cada vez que un nuevo lote de cartuchos de ensayo se cargue en el Panther Fusion System, o cuando el conjunto actual de controles válidos para un lote de cartuchos activo haya caducado.

El Panther Fusion System está configurado para que los controles de ensayo se ejecuten en un intervalo especificado por el administrador de hasta 30 días. El software del sistema Panther Fusion alerta al usuario cuando es necesario realizar controles de ensayo y no se iniciarán nuevos análisis hasta que se hayan cargado los controles de ensayo y haya comenzado su procesamiento.

Durante el procesamiento, el sistema Panther Fusion verifica automáticamente los criterios de aceptación de los controles de ensayo. Para generar resultados válidos, los controles de ensayo deben superar una serie de comprobaciones de validez realizadas por el sistema Panther Fusion.

Si los controles de ensayo superan todas las comprobaciones de validez, se considerarán válidos durante el intervalo de tiempo especificado por el administrador. Una vez transcurrido el intervalo de tiempo, el Panther Fusion System invalida los controles de ensayo y exigirá que se analice un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de pipetear nuevas muestras.

Si alguno de los controles de ensayo no supera las comprobaciones de validez, el Panther Fusion System invalida automáticamente las muestras afectadas y exigirá que se analice un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de pipetear nuevas muestras.

Control interno

Un control interno se agrega a cada muestra durante el proceso de extracción. Durante el procesamiento, el software del Panther Fusion System verifica automáticamente los criterios de validación del control interno. La detección del control interno no es necesaria para las muestras que son positivas para EBV. El control interno debe detectarse en todas las muestras que sean negativas para las dianas de EBV; las muestras que no cumplan esos criterios se notificarán como no válidas. Todas las muestras con un resultado no válido deberán volver a analizarse.

El software del Panther Fusion System se ha diseñado para verificar con precisión los procesos cuando los procedimientos se realizan según las instrucciones indicadas en este prospecto y el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

Interpretación de resultados

El Panther Fusion System determina automáticamente la concentración de DNA de EBV en muestras y controles al comparar los resultados con una curva de calibración. Las concentraciones de DNA de EBV se notifican en UI/mL y \log_{10} UI/mL. La interpretación de los resultados se indica en la Tabla 2.

Tabla 2: Interpretación de resultados de plasma

| Resultado notificado del EBV Quant Assay | | |
|--|------------------------|--|
| UI/mL | Valor \log_{10} | Interpretación |
| No detectado | No detectado | DNA de EBV no detectado. |
| <120 detectados | <2,08 | Se detecta DNA de EBV, pero a un nivel inferior al límite inferior de cuantificación (LIDC). |
| 120 a 1,50E09 | De 2,08 a 9,18 | La concentración de DNA de EBV está dentro del rango cuantitativo entre LIDC y LSDC UI/mL. |
| >1,50E09 | >9,18 | La concentración de DNA de EBV es superior al límite superior de cuantificación (LSDC). |
| No válido ^a | No válido ^a | Hubo un error en la generación del resultado. Es necesario volver a analizar la muestra. |

^a Los resultados no válidos se muestran en caracteres azules.

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la formación debida en este procedimiento. El incumplimiento de estas instrucciones puede producir resultados erróneos.
- B. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras.
- C. Evite la contaminación siguiendo las prácticas adecuadas de laboratorio y los procedimientos especificados en este prospecto.
- D. Aunque es raro, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma vírico de los cebadores y/o sondas en el Panther Fusion EBV Quant Assay pueden dar como resultado una menor cuantificación o la imposibilidad de detectar el virus.
- E. Los resultados negativos no descartan la presencia de infección por EBV y no deben utilizarse como criterio único para el tratamiento o la toma de otras decisiones de control del paciente.
- F. Un resultado positivo indica la detección de ácido nucleico del virus correspondiente. El ácido nucleico puede persistir aun después de que el virus ya no sea viable.

Rendimiento

Límite de detección utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS

El límite de detección (LDD) del ensayo se define como la concentración de DNA de EBV que se detecta con una probabilidad de 95 % o superior según el documento EP17-A2 del CLSI.⁸

Límite de detección en plasma con la norma de la OMS

El LDD se determinó mediante el análisis de paneles de la 1.^a norma internacional de la OMS (código NIBSC 09/260) para EBV diluido en plasma humano negativo para EBV. Se analizaron veinte (20) réplicas con cada dilución de los tres lotes de reactivo para un total de 60 réplicas por dilución. Se realizó un análisis probit para generar los límites de detección previstos. Los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección previstos se definen como LDD y se muestran en la Tabla 3. El LDD del Panther Fusion EBV Quant Assay utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS es de 54,1 UI/mL para plasma.

Tabla 3: Límite de detección para plasma utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS para EBV

| Límite de detección previsto | Concentración (UI/mL) |
|------------------------------|-----------------------|
| 10 % | 1,5 |
| 20 % | 2,4 |
| 30 % | 3,6 |
| 40 % | 5,1 |
| 50 % | 7,2 |
| 60 % | 10,2 |
| 70 % | 14,8 |
| 80 % | 22,4 |
| 90 % | 38,0 |
| 95 % | 54,1 |

Rango lineal

Rango lineal en plasma

El rango lineal se estableció analizando paneles de EBV diluidos en plasma humano negativo para EBV según el documento EP06-A del CLSI.⁹ Las concentraciones de los paneles fueron de 1,98 log UI/mL a 9,26 log UI/mL. El Panther Fusion EBV Quant Assay demostró linealidad en todo el rango analizado. El límite superior de cuantificación (LSDC) del ensayo es de 9,18 log UI/mL, como se muestra en la Figura 1.

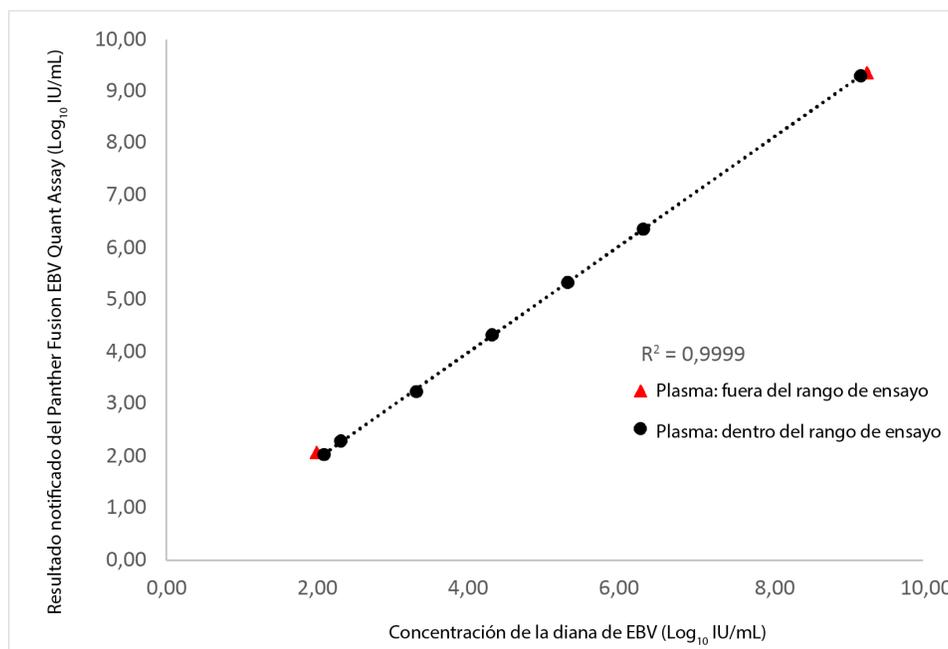


Figura 1. Linealidad en plasma

Límite inferior de cuantificación de detección utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS

El límite inferior de cuantificación (LIDC) se define como la concentración más baja en la que se puede cuantificar EBV de forma fiable, según el documento EP17-A2 del CLSI.⁸ El error total se estimó usando el modelo Westgard: Error total (TE) = |sesgo| + 2 DE. Para garantizar la precisión y la exactitud de las medidas, el error total del Panther Fusion EBV Quant Assay se estableció en 1,2 log UI/mL, con un sesgo de exactitud y una desviación estándar que debe estar entre $\leq 0,5$ log UI/mL y $\leq 0,35$ log UI/mL respectivamente.

Límite inferior de cuantificación utilizando la norma de la OMS en plasma

El LIDC se determinó mediante el análisis de paneles de la 1.^a norma internacional de la OMS (código NIBSC 09/260) para EBV diluido en plasma humano negativo para EBV. Se analizaron veinte (20) réplicas con cada dilución de los tres lotes de reactivo para un total de 60 réplicas por dilución. Los resultados del LIDC para los tres lotes de reactivos se muestran en la Tabla 4. El LIDC generado con la 1.^a norma internacional de la OMS para EBV en plasma es 120 UI/mL (2,08 log UI/mL).

Tabla 4: Determinación del LIDC utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS para EBV diluido en plasma

| Lote de reactivo | N | | Concentración diana (log UI/mL) | EBV Quant Assay (log UI/mL) | DE (log UI/mL) | Sesgo (log UI/mL) | TE calculado (log UI/mL) |
|------------------|----|-----------|---------------------------------|-----------------------------|----------------|--------------------|--------------------------|
| | N | detectado | | | | | |
| 1 | 20 | 20 | 1,93 | 2,06 | 0,21 | 0,2 | 0,6 |
| | 20 | 20 | 2,08 | 2,33 | 0,21 | 0,3 | 0,7 |
| | 20 | 20 | 2,18 | 2,45 | 0,13 | 0,3 | 0,5 |
| | 20 | 20 | 2,26 | 2,44 | 0,15 | 0,2 | 0,5 |
| 2 | 20 | 20 | 1,93 | 1,61 | 0,30 | 0,3 | 0,9 |
| | 20 | 20 | 2,08 | 1,79 | 0,23 | 0,3 | 0,8 |
| | 20 | 20 | 2,18 | 2,00 | 0,18 | 0,2 | 0,6 |
| | 20 | 20 | 2,26 | 2,09 | 0,17 | 0,2 | 0,5 |
| 3 | 20 | 20 | 1,93 | 1,75 | 0,20 | 0,2 | 0,6 |
| | 20 | 20 | 2,08 | 1,88 | 0,25 | 0,2 | 0,7 |
| | 20 | 20 | 2,18 | 2,09 | 0,12 | 0,1 | 0,4 |
| | 20 | 20 | 2,26 | 2,04 | 0,15 | 0,2 | 0,5 |

DE = desviación estándar $\leq 0,35$ (log UI/mL).

|Sesgo| = sesgo de exactitud $\leq 0,5$ (log UI/mL).

La dilución correspondiente a la concentración del LIDC y analizada en cada lote de reactivo está resaltada en gris.

Confirmación del límite inferior de cuantificación en distintos genotipos de EBV

Límite inferior de cuantificación en distintos genotipos en plasma

Se evaluó el LIDC determinado con la norma de la OMS mediante el análisis de los genotipos 1 (Raji, Akata y B95-8) y 2 (AG876, P3H1 y Jijoye) del EBV enriquecidos a 3 veces el valor del LIDC en plasma humano negativo para EBV. Se analizaron 3 réplicas de cada muestra del panel con un lote de reactivos. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5: Confirmación del LIDC en distintos genotipos en plasma

| Aislado (genotipo) | N | | Concentración diana (log UI/mL) | EBV Quant Assay (log UI/mL) | DE (log UI/mL) | Sesgo (log UI/mL) |
|---------------------|---|-----------|---------------------------------|-----------------------------|----------------|--------------------|
| | N | detectado | | | | |
| Raji (genotipo 1) | 3 | 3 | 2,56 | 2,84 | 0,12 | 0,3 |
| Akata (genotipo 1) | 3 | 3 | 2,56 | 2,95 | 0,11 | 0,4 |
| B95-8 (genotipo 1) | 3 | 3 | 2,56 | 2,59 | 0,08 | 0,1 |
| AG876 (genotipo 2) | 3 | 3 | 2,56 | 2,72 | 0,23 | 0,2 |
| P3H1 (genotipo 2) | 3 | 3 | 2,56 | 2,91 | 0,07 | 0,4 |
| Jijoye (genotipo 2) | 3 | 3 | 2,56 | 2,75 | 0,16 | 0,2 |

DE = desviación estándar.

Rastreabilidad con respecto a la 1.^a norma internacional de la OMS

Se usó una serie de normas secundarias con concentraciones conocidas a lo largo del desarrollo y fabricación del producto para determinar la rastreabilidad con respecto a la norma de la OMS. La 1.^a norma internacional de la OMS de EVB se diluyó y analizó junto con las normas secundarias y los controles de ensayo, y se usaron calibradores en el Panther Fusion EBV Quant Assay para evaluar la rastreabilidad según el documento EP32-R del CLSI.¹⁰ Las concentraciones de las normas secundarias fueron de 2,30 a 6,30 log₁₀ UI/mL.

Rastreabilidad con respecto a la norma de la OMS utilizando plasma

Las concentraciones analizadas para la 1.^a norma de la OMS estuvieron entre 2,26 y 4,70 log₁₀ UI/mL. La recuperación de los paneles de plasma de la OMS, las normas secundarias, los controles de ensayo y los calibradores de ensayo fue la esperada en el rango lineal del ensayo, como se puede observar en la Figura 2.

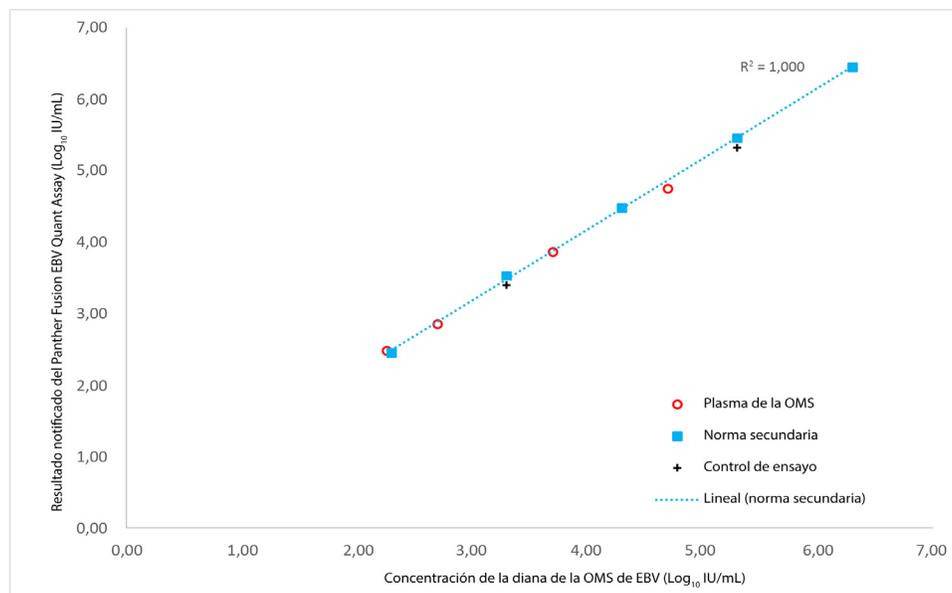


Figura 2. Rastreabilidad entre las concentraciones de la diana de la 1.^a norma de la OMS de EBV y las concentraciones notificadas en el Panther Fusion EBV Quant Assay (norma de la OMS diluida en plasma)

Precisión intralaboratorio

Para analizar la precisión intralaboratorio, se creó un panel positivo de 2 muestras mediante la dilución de DNA de EBV en plasma negativo para EBV. Un total de 2 usuarios analizaron las muestras de plasma del panel positivo con 3 lotes de reactivos en 3 sistemas Panther Fusion System a lo largo de 6 días no consecutivos de análisis. Cada muestra del panel se analizó por triplicado en cada ciclo. Los resultados se analizaron según las recomendaciones del documento EP-05-A3 del CLSI.¹¹

En la Tabla 6, se indica la reproducibilidad de los resultados del ensayo (en log IU/mL) correspondiente al panel positivo entre instrumentos, usuarios, lotes de cartuchos, ciclos, días, en el ciclo y en total.

Tabla 6: Reproducibilidad del Panther Fusion EBV Quant Assay en muestras de plasma

| N | Concentración media (log IU/mL) | Entre lotes | Entre instrumentos | Entre usuarios | Entre días | Entre ciclo | En el ciclo | Total |
|----|---------------------------------|-------------|--------------------|----------------|------------|-------------|-------------|-------|
| | | DE | DE | DE | DE | DE | DE | DE |
| 30 | 2,32 | 0,02 | 0,12 | 0,13 | 0,17 | 0,05 | 0,17 | 0,29 |
| 30 | 4,58 | 0,19 | 0,18 | 0,11 | 0,17 | 0,02 | 0,17 | 0,16 |

DE = desviación estándar.

Sustancias potencialmente interferentes

Se evaluó la susceptibilidad del Panther Fusion EBV Quant Assay debida a las interferencias provocadas por un nivel elevado de sustancias endógenas, anticoagulantes y fármacos que se suelen administrar a pacientes receptores de trasplantes mediante matrices de plasma negativo en presencia o ausencia de 2,56 log IU/mL de EBV en plasma. La concentración de análisis de cada una de las sustancias interferentes se seleccionó en función de las referencias bibliográficas disponibles y las directrices de los documentos EP07¹² y EP37¹³ del CLSI.

No se observó ninguna interferencia en la exactitud de la cuantificación del ensayo en muestras de plasma en presencia de las sustancias endógenas potencialmente interferentes enumeradas en la Tabla 7.

Tabla 7: Sustancias endógenas

| Sustancias potencialmente interferentes | Número de réplicas | Concentración analizada |
|---|--------------------|-------------------------|
| Albúmina | 3 | 375 mg/dL |
| Bilirrubina conjugada | 3 | 40 mg/dL |
| Hemoglobina | 3 | 1000 mg/dL |
| Heparina | 3 | 0,66 mg/dL |
| DNA genómico humano | 3 | 0,2 mg/mL |
| Triglicéridos | 3 | 3,45 mg/dL |
| Bilirrubina no conjugada | 3 | 0,40 mg/dL |

No se observó ninguna interferencia en la exactitud de la cuantificación del ensayo en la presencia de las sustancias exógenas enumeradas en la Tabla 8.

Tabla 8: Sustancias exógenas

| Sustancias potencialmente interferentes | Número de réplicas | Concentración analizada |
|---|--------------------|-------------------------|
| Aciclovir | 3 | 6,6 mg/dL |
| Azatioprina | 3 | 0,258 mg/dL |
| Cefotetán | 3 | 71,1 mg/dL |
| Cidofovir | 3 | 12,4 mg/dL |
| Clavulanato de potasio | 3 | 1,47 mg/mL |
| Ciclosporina | 3 | 0,180 mg/dL |
| EDTA | 3 | 0,099 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 |
| Micofenolato de mofetilo | 3 | 18,1 mg/dL |
| Ácido micofenólico | 3 | 18,1 mg/dL |
| Piperacilina | 3 | 110 mg/dL |
| Prednisona | 3 | 0,0099 mg/dL |
| Sirolimus | 3 | 0,0213 mg/dL |
| Citrato de sodio | 3 | 3200 mg/dL |
| Sulfametoxazol | 3 | 35,7 mg/dL |
| Tacrolimus | 3 | 0,0144 mg/dL |
| Tazobactam sódico | 3 | 10,2 mg/dL |
| Tenofovir disoproxil fumarato | 3 | 0,0978 mg/dL |
| Ticarcilina disódica | 3 | 151 mg/dL |
| Trimetoprima | 3 | 4,2 mg/dL |
| Valaciclovir | 3 | 3,83 mg/dL |
| Valganciclovir | 3 | 4,83 mg/dL |
| Vancomicina | 3 | 12 mg/dL |

Especificidad analítica

La posible reactividad cruzada a los microorganismos patógenos enumerados en la Tabla 9 se evaluó en matrices negativas para EBV en presencia o ausencia de 2,56 log UI/mL de EBV en plasma. Se evaluaron los microorganismos patógenos en la mayor concentración disponible. No se observó reactividad cruzada ni interferencia en la exactitud de la cuantificación.

Tabla 9: Microorganismos patógenos comprobados para determinar la especificidad analítica

| Microorganismo/patógeno | Concentración | Microorganismo/patógeno | Concentración |
|------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|
| ADV-4 | 1,00E+04 TCID ₅₀ /mL | Virus paragripal humano | 1,00E+05 UI/mL |
| <i>Aspergillus niger</i> | 1,00E+06 UFC/ml | Influenza A | 1,00E+05 UI/mL |
| Virus BK | 5,00E+06 cp/mL | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1,00E+06 cp/mL |
| <i>Candida albicans</i> | 1,00E+06 UFC/ml | <i>Listeria monocytogenes</i> | 1,00E+06 UFC/ml |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 1,00E+06 UFI/mL | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | 1,00E+06 CCU/mL |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 1,00E+06 cp/mL | <i>Mycobacterium intracellulare</i> | 1,00E+06 cp/mL |
| CMV | 1,00E+05 cp/mL | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 1,00E+06 UFC/ml |
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | 1,00E+06 UFC/ml | <i>Propionibacterium acnes</i> | 1,00E+06 UFC/ml |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | 1,00E+06 UFC/ml | Rhinovirus | 1,00E+06 cp/mL |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 1,00E+06 UFC/ml | <i>Salmonella enterica</i> | 1,00E+06 UFC/ml |
| <i>Escherichia coli</i> | 1,00E+06 UFC/ml | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1,00E+06 UFC/ml |
| HBV | 1,00E+05 UI/mL | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1,00E+06 UFC/ml |
| HCV | 1,00E+04 UI/mL | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 1,00E+06 UFC/ml |
| HIV-1 | 1,00E+05 UI/mL | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1,00E+06 UFC/ml |
| HPV-18 (células HeLa infectadas) | 1,00E+05 células/mL | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1,00E+06 UFC/ml |
| Virus del herpes humano 6 | 1,00E+05 cp/mL | <i>Trichomonas vaginalis</i> | 1,00E+05 trofozoítos/mL |
| Virus del herpes humano 7 | 1,00E+03 TCID ₅₀ /mL | Virus varicela-zóster | 1,00E+05 cp/mL |
| Virus del herpes humano 8 | 1,00E+05 TCID ₅₀ /mL | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | 1,00E+06 UFC/ml |
| Metaneumovirus humano | 1,00E+03 UI/mL | Virus de zika | 1,00E+05 TCID ₅₀ /mL |

CCU/mL = unidades de colonias cambiantes/mL.

UFC/mL = unidades formadoras de colonias por mL.

cp/mL = copias por mL.

UFI/mL = unidades formadoras de inclusión por mL.

UI/mL = unidades internacionales por mL.

TCID₅₀/mL = dosis infecciosa en cultivo tisular por mL.

Correlación de métodos

Este estudio se diseñó según el documento EP09c del CLSI.¹⁴

Correlación de métodos de plasma

Se comparó el rendimiento del Panther Fusion EBV Quant Assay con el de un ensayo comparador mediante el análisis de muestras recogidas retrospectivamente y muestras artificiales que abarcan todo el rango lineal. Se utilizó un total de 121 muestras dentro del intervalo lineal común a ambos ensayos para la regresión de Deming y se demostró un coeficiente de correlación del 98,35 %, como se muestra en la Figura 3.

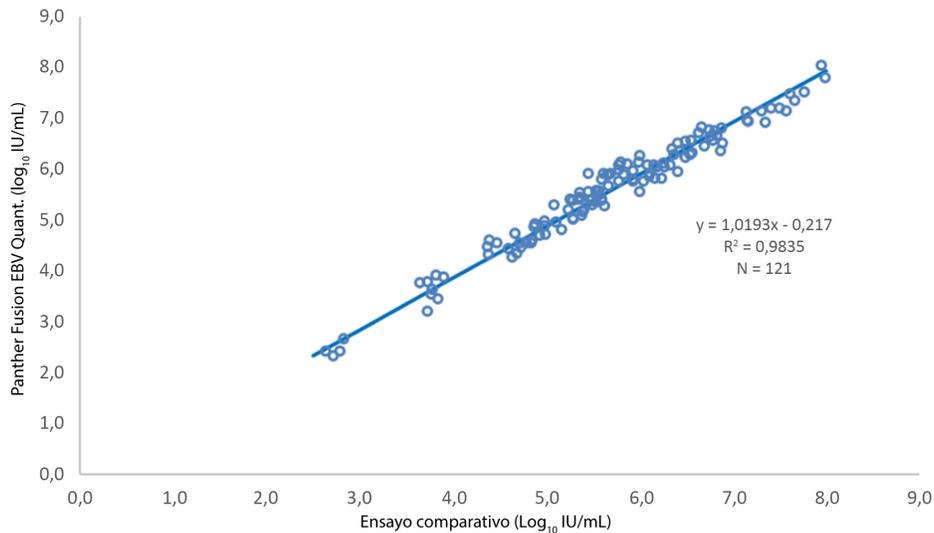


Figura 3. Correlación entre la carga vírica de EBV en el Panther Fusion EBV Quant Assay y un ensayo comparador en el análisis de muestras de plasma

Arrastre/contaminación cruzada

La contaminación por arrastre se evaluó utilizando muestras de STM enriquecidas con EBV de título elevado ($1,5E+09$ UI/mL) entremezcladas con muestras negativas para EBV en un patrón de tablero de ajedrez. Las pruebas se realizaron en 5 ciclos. La tasa global de contaminación por transferencia de muestra fue del 0,67 % (1/150).

Bibliografía

1. Tzellos S, Farrell PJ. 2012. Epstein-Barr Virus Sequence Variation—Biology and Disease. *Pathogens*. 1(2):156–174. doi.org/10.3390/pathogens1020156
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Epstein-Barr Virus and Infectious Mononucleosis. (2016). <https://www.cdc.gov/epstein-barr/about-mono.html>
3. Kimura H, Kwong Y-L. 2019. EBV Viral Loads in Diagnosis, Monitoring, and Response Assessment. *Front. Oncol.* 9:62.
4. Nijland, ML, Kersten MJ, Pals ST, Bemelman FJ, ten Berge JJM. 2016 *Transplantation Direct* 2016;2: e48 doi: 10.1097/TXD.0000000000000557
5. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al; Sixth European Conference on Infections in Leukemia, a joint venture of the Infectious Diseases Working Party of the European Society of Blood and Marrow Transplantation (EBMT-IDWP), the Infectious Diseases Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IDG), the International Immunocompromised Host Society (IHS) and the European Leukemia Net (ELN). Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematol.* 2016;107(7):803-811. doi:10.3324/haematol.2016.144428
6. 1st WHO International Standard for Epstein-Barr Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 09/260, version 4.0).
7. Instituto de estándares clínicos y de laboratorio. Documento M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI Sitio web <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (4 de abril, 2022)
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Interference Testing in Clinical Chemistry – Third Edition. Documento EP07 del CLSI, 3.ª ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. Documento EP37 del CLSI, 1.ª ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
14. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Documento EP09c del CLSI, 3.ª ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Información de contacto e historial de revisiones



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



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

Patrocinador australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park, NSW 2113

Para obtener las direcciones de correo y los teléfonos del soporte técnico y la atención al cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther y Panther Fusion y sus logotipos asociados son marcas comerciales y/o registradas de Hologic, Inc. y/o sus filiales en Estados Unidos y/o en otros países.

Quasar es una marca comercial registrada y está licenciada por Biosearch Technologies, Inc.

Todas las demás marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios.

Este producto puede estar cubierto por una o más patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

©2022-2025 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-26019-301 Rev. 003
2025-03

| Historial de revisiones | Fecha | Descripción |
|-------------------------|---------------|---|
| AW-26019 Rev. 003 | Marzo de 2025 | <ul style="list-style-type: none"> Actualización de los materiales necesarios. Actualización de la sección Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos. Actualización de la información sobre peligros según la versión más reciente de las SDS. Adición de las condiciones de almacenamiento en congelación en la sección Recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras. Adición del apartado Precisión intralaboratorio en la sección Rendimiento. Ediciones administrativas de rutina. |