

Test EBV Quant (Systém Panther Fusion®)

Na diagnostické použitie *in vitro*

Len pre export USA

OBSAH

Všeobecné informácie	2
Určené použitie	2
Zhrnutie a vysvetlenie testu	2
Zásady postupu	2
Upozornenia a opatrenia	3
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensmi	6
Odber, spracovanie a skladovanie preparátov	7
Vzorky v prístroji systému Panther Fusion	8
Preprava preparátov	8
Systém Panther Fusion	9
Poskytnuté reagensie a materiály testu EBV Quant pre systém Panther Fusion	9
Potrebné materiály dostupné samostatne	10
Voliteľné materiály	11
Postup testovania v systéme Panther Fusion	11
Poznámky k postupu	13
Kontrola kvality	14
Kalibrácia testu	14
Negatívne a pozitívne kontroly	14
Interná kontrola	14
Interpretácia výsledkov	15
Obmedzenia	16
Výkonnosť	17
Limit detekcie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO	17
Lineárny rozsah	18
Horný limit kvantifikácie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO	18
Stanovenie dolného limitu kvantifikácie u rôznych genotypov EBV	19
Sledovateľnosť k 1. medzinárodnému štandardu WHO	20
Presnosť v rámci laboratória	21
Potenciálne interferujúce látky	21
Analytická špecificita	23
Korelácia metód	24
Prenos/križová kontaminácia	24
Literatúra	25
Kontaktné údaje a história revízií	26

Všeobecné informácie

Určené použitie

Test EBV Quant pre systém Panther Fusion® je plne automatizovaný *in vitro* PCR test v reálnom čase (RT-PCR) na amplifikáciu nukleových kyselín s cieľom kvantifikácie DNA ľudského vírusu Epstein-Barrovej (EBV) v preparátoch ľudskej plazmy EDTA.

Test Panther Fusion EBV Quant je určený na použitie ako pomoc pri diagnostike a na pomoc pri liečbe pacientov po transplantácii pevných orgánov a pacientov po transplantácii hematopoetických kmeňových buniek.

Test Panther Fusion EBV Quant nie je určený na použitie ako skriningový test na prítomnosť EBV v krvi alebo krvných produktoch. Test je navrhnutý na použitie v systéme Panther Fusion.

Zhrnutie a vysvetlenie testu

EBV je všadeprítomný, lineárny dvojvláknový DNA vírus s veľkosťou 172 kb, ktorý patrí do rodiny herpesvírusov. Existujú dva hlavné genotypy EBV, typ 1 a 2, ktoré sa vyznačujú rozdielmi v gène *EBNA-2*.

Po primárnej infekcii sa EBV dostáva do cirkulujúcich B lymfocytov a následne zostáva v latentnom stave. Odhaduje sa, že 90 % populácie na celom svete je infikovaných vírusom EBV.¹ U imunokompetentných jedincov môže byť infekcia vírusom EBV v detstve asymptomatická. Infekcia EBV však môže viesť k infekčnej mononukleóze² u dospelých a je spojená s rôznymi typmi rakoviny: lymfómami, leukémiami, epitelovými malignitami a rakovinou žalúdka.³

U jedincov s oslabenou imunitou, ako sú príjemcovia transplantátu a jedinci infikovaní vírusom ľudskej imunodeficiencie (HIV), môže reaktivácia EBV viesť k malígnej lymfoproliferácii a je dôležitou príčinou morbidita a mortality. Väčšina týchto nádorov spojených s vírusom EBV, známych ako „posttransplantačné lymfoproliferatívne ochorenie“ (PTLD), sa často vyskytuje v priebehu prvého roka po transplantácii.³

Kvantitatívne testovanie amplifikácie nukleovej kyseliny z preparátov plnej krvi alebo plazmy je preferovanou metódou na monitorovanie infekcie vírusom EBV a ochorenia u príjemcov transplantátu, pretože je rýchle, citlivé, pohodlné a neinvazívne. Najnovšie odporúčania odporúčajú týždenné monitorovanie vírusovej záťaže EBV na podporu rozhodnutí začať liečbu proti EBV a sledovať odpoveď na liečbu.⁴

Vyššie hodnoty vírusovej záťaže vo všeobecnosti súvisia so zvýšeným rizikom ochorenia súvisiaceho s vírusom EBV.⁵ Kvantifikácia DNA vírusu EBV spolu s klinickým obrazom a inými laboratórnymi markermi je teda rozhodujúca pri liečbe pacientov s infekciou vírusom EBV.

Zásady postupu

Systém Panther Fusion plne automatizuje spracovanie preparátov vrátane lýzy buniek, záchytu nukleových kyselín, amplifikácie a detekcie pre test Panther Fusion EBV Quant. Test EBV Quant pre systém Panther Fusion sa zameriava na vysoko konzervovaný gén *EBNA-1*, aby sa zabezpečila presná kvantifikácia DNA vírusu EBV. Test je štandardizovaný podľa 1. medzinárodnej normy WHO (kód NIBSC: 09/260) pre EBV.⁶

Spracovanie vzoriek a zachytávanie nukleových kyselín: Interná kontrola (IC-B) sa automaticky pridáva ku každému preparátu prostredníctvom pracovnej zachytnej reagencie B Fusion (wFCR-B) na monitorovanie interferencií počas spracovania preparátu, amplifikácie a detekcie spôsobených zlyhaním reagencie alebo inhibičnými látkami. Preparáty sa najprv pridávajú do zachytnej reagencie B Fusion (FCR-B) a posilňovacej reagencie B Fusion (FER-B), aby sa uvoľnila nukleová kyselina na hybridizáciu s magnetickými časticami. Zachytené častice sa potom oddelia od zvyšnej matrice preparátu v magnetickom poli sériou premývacích krokov s jemným detergentom. Zachytená nukleová kyselina sa potom oddelí od magnetických častíc reagentiou s nízkou iónovou silou (elučný pufer Panther Fusion).

Poznámka: Systém Panther Fusion pridá IC-B k FCR-B. Po pridaní IC-B do FCR-B sa označuje ako wFCR-B.

Amplifikácia PCR a detekcia fluorescencie: Lyofilizovaná jednodávková základná zmes PCR sa rekonštituuje s rekonštitučným purom Panther Fusion I a kombinuje sa s eluovanou nukleovou kyselinou v reakčnej skúmavke. Aby sa zabránilo odparovania počas PCR reakcie, pridáva sa olejová reagentia Panther Fusion. Cieľová amplifikácia založená na PCR následne prebieha s cieľovo špecifickými priamymi a reverznými primérami a sondou generujúcou fluorescenčný signál.

Systém Panther Fusion poskytuje hodnotu Ct úmernú koncentrácii EBV v testovaných vzorkách. Koncentrácia vzorky je stanovená softvérom systému Panther Fusion pomocou hodnôt Ct EBV pre každú reakciu a ich porovnania s kalibračnou krivkou. Výsledky EBV v preparátoch plazmy sa uvádzajú v IU/ml a log₁₀ IU/ml. Ciele a kanály použité na ich detekciu v systéme Panther Fusion sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Cieľ	Cieľový gén	Kanál prístroja
EBV	EBNA-1	HEX
Interná kontrola	Nevzťahuje sa	Quasar® 705

Upozornenia a opatrenia

- Na diagnostické použitie *in vitro*.
- Na profesionálne použitie.
- Pred vykonaním tohto testu si pozorne prečítajte celú príbalovú informáciu a *Prevádzková príručka systému Panther®/Panther Fusion*.
- Posilňovacia reagentia B Panther Fusion (FER-B) je žieravá, škodlivá pri požití a spôsobuje vážne popáleniny kože a poškodenie očí.
- Tieto postupy môže vykonávať len personál adekvátne vyškolený ohľadom používania tohto testu a zaobchádzania s potenciálne infekčnými materiálmi. Ak dôjde k vyliatiu, okamžite miesto vydezinfikujte pomocou príslušných postupov pracoviska.
- Vzorky môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto testu dodržiavajte univerzálne opatrenia. Riaditeľ laboratória musí stanoviť správne metódy manipulácie a likvidácie. Tento diagnostický postup môžu vykonávať len osoby primerane vyškolené v zaobchádzaní s infekčnými materiálmi.⁷

- G. Dodržiavajte rutinné laboratórne opatrenia. Nepipetujte ústami. Vo vyhradených pracovných oblastiach nejedzte, nepite ani nefajčite. Pri manipulácii s preparátmi a reagensiami používajte jednorazové, bezprašné rukavice, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii s preparátmi a reagensiami si dôkladne umyte ruky.
- H. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.
- I. Pracovné plochy, pipety a iné zariadenia sa musia pravidelne dekontaminovať 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného.
- J. Všetok materiál, ktorý príde do kontaktu s preparátmi a reagensiami, zlikvidujte v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi nariadeniami.
- K. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu vzorky. Stabilita vzoriek za prepravných podmienok iných, ako sú odporúčané, nebola hodnotená.
- L. Počas manipulácie so vzorkami sa vyhnite krížovej kontaminácii. Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu pri uvoľňovaní alebo odstraňovaní uzáverov zo vzoriek. Preparáty môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny vírusov alebo iných organizmov. Uistite sa, že nádoby na preparáty sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez akékoľvek otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu s preparátmi.
- M. Nepoužívajte reagenty, kalibrátory ani kontroly po dátume expirácie.
- N. Súčasti testu uchovávajte pri odporúčaných podmienkach na uchovávanie. Viac informácií nájdete v časti *Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiami a Postup testovania v systéme Panther Fusion*.
- O. Nekombinujte žiadne reagenty ani tekutiny testu. Nedopĺňajte reagenty ani tekutiny, systém Panther Fusion overuje hladiny reagentov.
- P. Zabráňte kontaminácii reagentov mikróbmi a nukleázami.
- Q. Požiadavky na kontrolu kvality sa musia vykonať v súlade s miestnymi, vnútroštátnymi a/alebo federálnymi predpismi alebo akreditačnými požiadavkami a štandardnými postupmi kontroly kvality vášho laboratória.
- R. Nepoužívajte kazetu testu, ak vrečko na skladovanie stratilo tesnenie alebo ak je fólia kazety porušená. V každom prípade sa obráťte na technickú podporu spoločnosti Hologic.
- S. Nepoužívajte balenia s kvapalinou, ak je fólia porušená. V tomto prípade sa obráťte na technickú podporu spoločnosti Hologic.
- T. Manipulujte s kazetami testu opatrne. Zabráňte pádu alebo prevráteniu kazety testu. Vyhnite sa dlhodobému vystaveniu okolitému svetlu.
- U. Niektoré reagenty tejto súpravy sú označené rizikovými a bezpečnostnými symbolmi.

Poznámka: Informácie o nebezpečenstve odrážajú klasifikácie kariet bezpečnostných údajov EÚ (SDS). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v SDS pre jednotlivé regióny v knižnici bezpečnostných údajov na adrese www.hologicsds.com. Bližšie informácie o symboloch nájdete vo vysvetlení symbolov na adrese www.hologic.com/package-inserts.

Informácie EÚ o nebezpečenstve	
—	Kazety testu Panther Fusion EBV Quant ALFA-CYKLODEXTRÍN 20 – 25 % H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
—	Záchytná reagencia B Panther Fusion (FCR-B) HEPES 15 – 20 % LÍTNÁ SOĽ LAURYL SULFÁTU 10 – 15 % KYSELINA SUKCIŇOVÁ 1 – 5 % HYDROXID LÍTNY, MONOHYDRÁT 1 – 5 % H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
 	Posilňovacia reagencia B Panther Fusion (FER-B) HYDROXID LÍTNY, MONOHYDRÁT 5 – 10 % NEBEZPEČENSTVO H302 – Škodlivý po požití. H314 – Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. P264 – Po manipulácii starostlivo umyte tvár, ruky a exponovanú pokožku. P270 – Pri používaní výrobku nejedzte, nepite ani nefajčite. P330 – Vypláchnite ústa. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov. P260 – Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly. P280 – Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. P301 + P330 + P331 - PO POŽITÍ: vypláchnite ústa. NEVYVOLÁVAJTE zvracanie. P303 + P361 + P353 - PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku ihneď opláchnite vodou [alebo sprchou]. P304 + P340 - PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. P305 + P351 + P338 - PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. P310 – Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. P321 – Odborné ošetrovanie (pozri doplnkové pokyny prvej pomoci na etikete). P363 – Kontaminovaný odev pred ďalším použitím vyperte. P405 – Uchovávať uzamknuté.

Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiami

A. V nasledujúcej tabuľke sú uvedené požiadavky na skladovanie a manipuláciu s týmto testom.

Reagencia	Uskladnenie neotvorených balení	Stabilita v prístroji/po otvorení ¹	Skladovanie otvorených ampuliek
Kazety testu Panther Fusion EBV Quant	2 °C až 8 °C	60 dní	2 °C až 8 °C ²
Záchytná reagencia B Panther Fusion (FCR-B)	15 °C až 30 °C	30 dní	15 °C až 30 °C
Posilňovacia reagencia B Panther Fusion (FER-B)	15 °C až 30 °C	30 dní	15 °C až 30 °C
Interná kontrola B Panther Fusion (IC-B)	2 °C až 8 °C	(Vo wFCR-B)	Nevzťahuje sa
Elučný pufer Panther Fusion	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Olej Panther Fusion	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Rekonštitučný pufer I Panther Fusion	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Kalibrátory Panther Fusion EBV Quant (1 – 5)	-15 °C až -35 °C	Jednorázová ampulka	Nevzťahuje sa – na jedno použitie
Vysoko pozitívna kontrola Panther Fusion EBV-BKV Quant	-15 °C až -35 °C	Jednorázová ampulka	Nevzťahuje sa – na jedno použitie
Nízko pozitívna kontrola Panther Fusion EBV-BKV Quant	-15 °C až -35 °C	Jednorázová ampulka	Nevzťahuje sa – na jedno použitie
Negatívna kontrola transplantátu Panther Fusion (III)	-15 °C až -35 °C	Jednorázová ampulka	Nevzťahuje sa – na jedno použitie

Po vybratí reagentov zo systému Panther Fusion ich okamžite privedte na príslušnú skladovaciu teplotu.

¹ Stabilita v prístroji pre kazetu testu EBV Quant v systéme Panther Fusion, FCR-B, FER-B a IC-B začína vtedy, keď sa reagencia umiestni do systému Panther Fusion. Stabilita v prístroji pre rekonštitučný pufer I Panther Fusion, elučný pufer Panther Fusion a olejovú reagentiu Panther Fusion začína okamihom prvého použitia balenia reagentie.

² Po odstránení zo systému Panther Fusion kazetu testu uchováajte vo vzduchotesnej nádobe s vysúšadlom pri odporúčanej teplote skladovania.

B. Pracovná záchytná reagencia B Panther Fusion (wFCR-B) a posilňovacia reagencia B Panther Fusion (FER-B) sú stabilné po dobu 60 dní, ak sú uzatvorené a skladované pri teplote 15 °C až 30 °C. Neuchovávajú v chladničke.

C. Všetky nepoužité reagenty, ktoré prekročili svoju stabilitu, zlikvidujte.

D. Pri manipulácii s reagensiami a ich skladovaní zabráňte krížovej kontaminácii.

E. **Reagenty nezmrazujte.**

F. **Kontroly ani kalibrátory opätovne nezmrazujte.**

G. Neotvorené kazety testu EBV Quant, kalibrátory (1 – 5) a kontroly sú stabilné až 18 mesiacov po výrobe, ak sa dodržia odporúčané podmienky skladovania. Pozrite si dátum expirácie na balení.

Odber, spracovanie a skladovanie preparátov

Preparáty – klinický materiál odobraný pacientovi a umiestnený do vhodného transportného systému. V prípade testu EBV Quant pre systém Panther Fusion ide o preparáty plnej krvi odobrané do skúmaviek obsahujúcich antikoagulant EDTA na prípravu preparátov plazmy alebo skúmaviek na prípravu plazmy (PPT).

Vzorky – predstavujú všeobecnejší termín opisujúci akýkoľvek materiál na testovanie pomocou systému Panther Fusion vrátane preparátov, kalibrátorov a kontrol.

Poznámka: So všetkými preparátmi zaobchádzajte tak, ako keby obsahovali potenciálne infekčné činitele. Dodržiavajte všeobecné bezpečnostné opatrenia.

Poznámka: Dávajte pozor, aby ste sa počas krokov manipulácie s preparátmi vyhli krížovej kontaminácii. Napríklad použitý materiál zlikvidujte bez toho, aby ste prechádzali ponad otvorené skúmavky.

Poznámka: Na skladovanie vzoriek odporúčame iba plastové sekundárne skúmavky.

A. Odber vzoriek

Na prípravu plazmy je možné použiť vzorky plnej krvi odobrané do nasledujúcich sklenených alebo plastových skúmaviek:

- skúmavky obsahujúce antikoagulant EDTA
- skúmavky na prípravu plazmy (PPT)

B. Spracovanie preparátov

1. Plazma: Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Plazmu možno pripraviť buď z primárnych skúmaviek s EDTA, alebo PPT. Oddelíte plazmu od peletovaných erytrocytov podľa pokynov výrobcu použitej skúmavky. Plazmu môžete v primárnej skúmavke otestovať v systéme Panther Fusion alebo ju preneste do sekundárnej skúmavky, ako je skúmavka na alikvotáciu vzoriek Aptima® (SAT).

Aby ste zabezpečili dostatočný objem vzorky, pozrite si nasledujúcu tabuľku:

Tabuľka 1: Minimálny objem vzoriek

Skúmavka (veľkosť a typ)	Minimálny objem pre 1 replikát
Alikvotačná skúmavka na vzorky Aptima (SAT)	0,6 ml
12 x 75 mm	0,9 ml
13 x 100 mm	0,9 ml
13 x 100 mm s gélom	0,7 ml
16 x 100 mm s gélom	1,1 ml

Ak nevykonáte testovanie ihneď, plazmu je možné skladovať v súlade so špecifikáciami uvedenými v *Podmienky skladovania preparátov*. Po prenose do sekundárnej skúmavky môže byť plazma zmrazená pri teplote –20 °C. Nezmrazujte preparáty plazmy v primárnych odberových skúmavkách EDTA.

C. Podmienky skladovania preparátov

Preparáty možno uchovávať za nasledujúcich podmienok:

1. Stabilita plazmy

- Nespracované preparáty sú stabilné po centrifugácii po dobu 24 hodín pri teplote 2 °C až 30 °C.
- Nespracované preparáty sú stabilné po centrifugácii po dobu 5 dní pri teplote 2 °C až 8 °C.
- Nespracované a spracované preparáty sú stabilné 60 dní pri teplote –20 °C.
- Zmrazené preparáty sú tiež stabilné po dobu až do troch cyklov zmrazenia/rozmrazenia.

Vzorky v prístroji systému Panther Fusion

Vzorky plazmy je možné ponechať v systéme Panther Fusion neuzatvorené až 8 hodín. Vzorky je možné vytiahnuť zo systému Panther Fusion a otestovať, kým celková doba v prístroji neprekročí 8 hodín pred pipetovaním vzorky systémom Panther Fusion.

Preprava preparátov

Pri preprave vzoriek dodržujte podmienky skladovania vzoriek popísané v časti *Odber, spracovanie a skladovanie preparátov*.

Poznámka: Preparáty sa musia prepravovať v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi usmerneniami týkajúcimi sa prepravy.

Systém Panther Fusion

Systém Panther Fusion je integrovaný systém na testovanie nukleových kyselín, ktorý plne automatizuje všetky kroky nevyhnutné na vykonanie testov Panther Fusion od spracovania vzorky, cez amplifikáciu, detekciu a dátovú redukciu.

Poskytnuté reagenty a materiály testu EBV Quant pre systém Panther Fusion

Balenie testu

Komponenty	Č. dielu	Skladovanie
Kalibrátory testu Panther Fusion EBV Quant		
PCAL 1 qEBV, 3 v balení	PRD-07159	-15 °C až -35 °C
PCAL 2 qEBV, 3 v balení		
PCAL 3 qEBV, 3 v balení		
PCAL 4 qEBV, 3 v balení		
PCAL 5 qEBV, 3 v balení		
Kontroly testu Panther Fusion EBV-BKV Quant		
Skúmavka s vysoko pozitívnou kontrolou HPC, 5 ks v krabici	PRD-07158	-15 °C až -35 °C
Skúmavka s nízko pozitívnou kontrolou LPC, 5 ks v krabici		
Skúmavka s negatívnou kontrolou transplantátu NC III, 5 ks v krabici		
Kazety testu Panther Fusion EBV Quant, 96 testov		
Kazeta na test Panther Fusion qEBV, 12 testov, 8 v balení	PRD-07157	2 °C až 8 °C
Interná kontrola B Panther Fusion, 960 testov		
Skúmavka s internou kontrolou B Panther Fusion, 4 ks v krabici	PRD-06234	2 °C až 8 °C
Extrakčná reagentia B Panther Fusion, 960 testov		
Fľaštička záchytnej reagentie B Panther Fusion, 240 testov, 4 ks v krabici	PRD-06232	15 °C až 30 °C
Fľaštička posilňovacej reagentie B Panther Fusion, 240 testov, 4 ks v krabici		
Elučný pufer Panther Fusion, 2 400 testov		
Balenie elučného pufru Panther Fusion, 1 200 testov, 2 ks v krabici	PRD-04334	15 °C až 30 °C
Rekonštitučný pufer I Panther Fusion, 1 920 testov		
Rekonštitučný pufer I Panther Fusion, 960 testov, 2 ks v krabici	PRD-04333	15 °C až 30 °C
Olejová reagentia Panther Fusion, 1 920 testov		
Olejová reagentia Panther Fusion, 960 testov, 2 ks v krabici	PRD-04335	15 °C až 30 °C

Potrebné materiály dostupné samostatne

Poznámka: Materiály dostupné od spoločnosti Hologic majú uvedené katalógové čísla, pokiaľ nie je uvedené inak.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther®	303095
Modul Panther Fusion	PRD-04173
Systém Panther Fusion	PRD-04172
Systém Panther, kontinuálny prietok a odtok (Panther Plus)	PRD-06067
Súprava kvapalín k testom Aptima® (premyvací roztok Aptima, pufer na deaktiváciu kvapaliny Aptima a olejová reagentia Aptima)	303014 (1 000 testov)
Viacskúmavkové jednotky (MTU)	104772-02
Súprava odpadových vriec Panther	902731
Kryt odpadkového koša Panther	504405
Alebo súprava chodu systému Panther obsahuje MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkového koša, kvapaliny testu a auto detekcie*	303096 (5 000 testov)
Špičky, 1 000 µl, filtrované, s detekciou kvapalín, vodivé a jednorazové: <i>Nie všetky produkty sú dostupné vo všetkých oblastiach. Informácie špecifické pre danú oblasť vám poskytne váš zástupca.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Podnosy na skúmavky Panther Fusion, 1 008 testov, 18 podnosov v škatuli	PRD-04000
Náhradné uzávery Hologic Solid (uzáver skúmavky na jedno použitie)	PRD-06720 (100 uzáverov v jednom vrecku)
Bielidlo, 5 % až 8,25 % (0,7 M až 1,16 M) roztok chlórnanu sodného Ďalšie informácie o príprave riedeného roztoku chlórnanu sodného nájdete v <i>Príručke k obsluhu systému Panther/Panther Fusion</i> .	—
Jednorazové rukavice bez púdru	—
Plastové kryty na laboratórne stoly	—
Utierky nepúšťajúce vlas	—
Pipetovač	—
Špičky	—
Možnosti primárnych odberových skúmaviek (EDTA a PPT): 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
Centrifúga	—
Vortexové miešadlo	—

*Potrebné len pre testy TMA Panther Aptima.

Voliteľné materiály

Materiál	Kat. č.
Možnosti pre sekundárnu skúmavku:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Balenie alikvótnych skúmaviek na preparát Aptima (SAT) (100 skúmaviek vo vrecku)	FAB-18184
Uzáver prepravnej skúmavky (100 ks v balení) <i>uzáver pre SAT</i>	504415
Prípravok na riedenie na vzorky Aptima	PRD-03003
Súprava prípravku na riedenie na preparáty Aptima <i>obsahuje riediaci prípravok na preparáty, 100 SAT a 100 uzáverov</i>	PRD-03478
Transferové pipety	—
Trepačka skúmaviek	—

Postup testovania v systéme Panther Fusion

Poznámka: Ďalšie informácie o postupe nájdete v Prevádzková príručka systému Panther/ Panther Fusion.

A. Príprava pracovnej oblasti

1. Pracovné plochy utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite deionizovanou (DI) vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Zakryte povrch pracovného stola čistými absorpčnými krytmi na laboratórny stôl podlepenými plastom.
2. Vyčistite samostatný pracovný povrch, kde budete pripravovať vzorky. Postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).
3. Vyčistite prípadné pipety. Pri čistení postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).

B. Príprava kalibrátorov a kontrol

Pred spracovaním nechajte kalibrátory a kontroly dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C:

1. Vyberte kalibrátory a kontroly zo skladovacieho priestoru (-15 °C až -35 °C) a uložte ich do prostredia s teplotou 15 °C až 30 °C. Počas rozmrazovania jemne prevráťte každú skúmavku a dôkladne premiešajte. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Možnosť. Skúmavky kalibrátora a kontrol je možné vložiť do trepačky a nechať tak dobre premiešať. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Poznámka: Pri prevracaní kalibrátorov a kontrol nevytvárajte nadmernú penu. Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther Fusion.

2. Po rozmrazení obsahu skúmavky vysušte vnútro skúmavky čistou suchou jednorazovou utierkou.
3. Zatiaľ skúmavky neotvárajte, aby nedošlo ku kontaminácii.

C. Príprava reagentie

1. Fľaše s IC-B, FCR-B a FER-B vyberte zo skladu.
2. Zmiešajte FCR-B, kým sa guľôčky úplne nerozpustia. Počas tohto kroku zabráňte vytvoreniu peny.
3. Fľaše s IC-B, FCR-B a FER-B otvorte a zlikvidujte uzávery. Otvorte dvierka TCR v hornej časti systému Panther Fusion.
4. Fľaše s IC-B, FCR-B a FER-B umiestnite na príslušné miesta na okrúhlu tácku TCR.
5. Zatvorte dvierka TCR.

Poznámka: Systém Panther Fusion pridá IC-B k FCR-B. Po pridaní IC-B do FCR-B sa označuje ako wFCR-B (pracovný roztok FCR-B). Ak sú wFCR-B a FER-B odstránené zo systému, použite nové uzávery a okamžite ich uschovajte podľa správnych skladovacích podmienok.

D. Manipulácia s preparátmi

Poznámka: Pred vložením preparátov do systému Panther Fusion pripravte preparáty podľa pokynov v časti Odber, spracovanie a skladovanie preparátov.

Pred vložením do stojanu skúmavky so vzorkami skontrolujte. Ak skúmavka na vzorky obsahuje bubliny alebo má menší objem, ako sa typicky pozoruje, jemne poklepte na spodok skúmavky, aby ste dostali obsah na spodok.

E. Manipulácia s preparátmi plazmy

1. Skontrolujte, že spracované preparáty v primárnych skúmavkách alebo neriedené preparáty v sekundárnych skúmavkách sú adekvátne uskladnené podľa Odber, spracovanie a skladovanie preparátov.
2. Uistite sa, že sú zmrazené vzorky adekvátne rozmrazené. Poriadne premiešajte rozmrazené vzorky v trepačke počas 3 až 5 sekúnd.
3. Pred spracovaním ponechajte preparáty dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C. Ďalšie informácie o položkách v prístroji nájdete v časti Vzorky v prístroji systému Panther Fusion.
4. Zaistite, aby každá primárna alebo sekundárna skúmavka obsahovala zodpovedajúci preparát. Minimálny objem vzorky pre 1 replikát nájdete v Tabuľka 1.
5. Pred vložením vzoriek do stojana na vzorky centrifugujte každú vzorku pri 1 000 až 3 000 g po dobu 10 minút. V tomto kroku neodstraňujte uzávery.

Informácie o plnení stojana a odstraňovaní uzáverov nájdete v kroku F.2 nižšie.

F. Príprava systému

1. Pokyny na nastavenie systému Panther Fusion vrátane vkladania vzoriek, reagentí, kaziet testu a univerzálnych kvapalín nájdete v častiach Prevádzková príručka systému Panther/Panther Fusion a Poznámky k postupu.
2. Vložte vzorky do stojana na vzorky Vykonajte nasledujúce kroky pre každú skúmavku na vzorky (preparát a v prípade potreby kalibrátory a kontroly):
 - a. Uvoľnite uzáver jednej skúmavky na vzorky, ale neodstraňujte ho.

Poznámka: Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu. Jemne uvoľníte uzávery na vzorkách.
 - b. Vložte skúmavku na vzorky do stojana na vzorky.
 - c. Zopakujte kroky 2.a a 2.b pre každú zostávajúcu vzorku.

- d. Po vložení vzoriek do stojana na vzorky vytiahnite a zlikvidujte každý uzáver skúmavky na vzorky v jednom stojane na vzorky. Aby ste predišli kontaminácii, nemanipulujte uzáverom nad žiadnymi inými stojanmi na vzorky ani skúmavkami na vzorky.
- e. V prípade potreby odstráňte prípadné bubliny alebo penu pomocou novej jednorazovej prenosovej pipety. Bubliny v skúmavke interferujú so snímaním hladiny v systéme Panther Fusion.
- f. Po odstránení posledného uzáveru vložte stojan na vzorky do rezervoára na vzorky.
Poznámka: Ak súčasne spracováate ďalšie testy a typy vzoriek, zaistíte zachytávač vzoriek pred vložením stojana na vzorky do rezervoára na vzorky.
- g. Zopakujte kroky 2.a až 2.f pre ďalší stojan na vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátory a kontroly

1. Kalibrátory qEBV (5 skúmaviek), nízko pozitívnu kontrolu EBV-BKV (LPC), vysoko pozitívnu kontrolu EBV-BKV (HPC) a skúmavky s transplantačnou negatívnou kontrolou (NC III) je možné v systéme Panther Fusion vložiť do akejkoľvek polohy v stojane na vzorky a do akejkoľvek dráhy rezervoára na vzorky. Pipetovanie kalibrátorov a kontrol sa začne po vložení preparátov EBV do systému. Pipetovanie vzorky sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:
 - a. Kalibrátor a kontroly sú v súčasnosti spracovávané systémom.
 - b. Platné výsledky pre kalibrátory a kontroly sú zaregistrované v systéme.
2. Potom, ako prebehlo pipetovanie skúmaviek s kalibrátorom a kontrolou a ich spracovanie pre test Panther Fusion EBV Quant, sa môžu preparáty testovať. Výsledky kalibrácie sú platné po dobu 60 dní a výsledky kontrol sú platné maximálne 30 dní (frekvencia nastavená správcom), **pokiaľ nenastane nasledujúce:**
 - a. Výsledky kalibrátora sú neplatné.
 - b. Výsledky kontroly sú neplatné.
 - c. Operátor požiada o spustenie nových kontrol/kalibrátorov v softvéri systému Panther Fusion.
3. Kalibrácia sa vyžaduje pre každú novú šaržu kazety testu, ktorá je vložená do systému Panther Fusion pred jej použitím na spracovanie preparátov.
4. Každá skúmavka s kalibrátorom a kontrolou sa môže použiť len raz.

Kontrola kvality

Kalibrácia testu

Je nutné ukončiť kalibráciu testu, aby ste získali platné výsledky. Päť pozitívnych kalibrátorov sa spustí trikrát zakaždým, keď sa do systému Panther Fusion vloží nová šarža kazety testu. Po ukončení je kalibrácia rozboru platná až 60 dní. Softvér v systéme Panther Fusion upozorní operátora, keď je potrebná kalibrácia.

Počas spracovania softvér Panther Fusion automaticky overí platnosť kalibračnej krivky. Ak kalibrácia pri kontrolách validity zlyhá, systém Panther Fusion automaticky zneplatní všetky dotknuté vzorky a pred pipetovaním ďalších vzoriek bude vyžadovať spustenie novej sady kalibrátorov testu.

V predvolenom nastavení test spracováva vzorky ako neriedenú plazmu.

Negatívne a pozitívne kontroly

Aby sa vygenerovali platné výsledky, musí sa otestovať súprava kontrol testu. Jeden replikát NC III (transplantačná negatívna kontrola), LPC (nízko pozitívna kontrola) a HPC (vysoko pozitívna kontrola) sa musia otestovať vždy, keď sa do systému Panther Fusion vloží nová šarža kaziet testu alebo vyprší platnosť aktuálnej súpravy platných kontrol pre šaržu aktívnej kazety.

Systém Panther Fusion je nakonfigurovaný tak, aby vyžadoval chod kontrol testu v správcom špecifikovanom intervale až 30 dní. Softvér v systéme Panther Fusion upozorní operátora, keď sú nutné kontroly testu, a nezačne nové testy, kým nebudú vložené kontroly testu a nezačnú sa spracovávať.

Počas spracovávania systém Panther Fusion automaticky overí kritériá prijateľnosti kontrol testu. Aby sa vygenerovali platné výsledky, kontroly testu musia prejsť sériou kontrol validity vykonaných systémom Panther Fusion.

Ak kontroly testu splnia všetky kontroly validity, považujú sa za platné počas časového intervalu špecifikovaného správcom. Po uplynutí tohto časového intervalu platnosť kontrol testu v systéme Panther Fusion vyprší a pred pipetovaním nových vzoriek je potrebná nová súprava kontrol testu.

Ak niektorá z kontrol testu pri kontrolách validity zlyhá, systém Panther Fusion automaticky zneplatní zasiahnuté vzorky a pred pipetovaním ďalších vzoriek bude vyžadovať novú súpravu kontrol testu.

Interná kontrola

Interná kontrola sa pridáva do každej vzorky počas extrakčného postupu. V priebehu spracovania softvér systému Panther Fusion automaticky overí kritériá prijateľnosti internej kontroly. Detekcia internej kontroly sa nevyžaduje u vzoriek pozitívnych na EBV. Interná kontrola musí byť detegovaná vo všetkých vzorkách, ktoré sú negatívne na EBV. Vzorky, ktoré nesplnia tieto kritériá, budú hlásené ako neplatné. Všetky vzorky s neplatnými výsledkami je nutné otestovať znova.

Softvér systému Panther Fusion je navrhnutý na presnú verifikáciu procesov, keď sa vykonávajú postupy podľa pokynov poskytnutých v tomto príbalovom letáku a *prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion*.

Interpretácia výsledkov

Systém Panther Fusion automaticky stanoví koncentráciu EBV DNA pre vzorky a kontroly porovnaním výsledkov s kalibračnou krivkou. Koncentrácie EBV DNA sú hlásené v jednotkách IU/ml a $\log_{10}$ IU/ml. Interpretácia výsledkov je uvedená v Tabuľka 2.

Tabuľka 2: Interpretácia výsledkov v plazme

Hlásené výsledky testu EBV Quant		
IU/ml	Hodnota $\log_{10}$	Interpretácia
Nedetegované	Nedetegované	EBV DNA nedetegovaná.
< 120 detegovaných	< 2,08	EBV DNA je detegovaná, ale na úrovni pod dolným limitom kvantifikácie (LLoQ).
120 až 1,50E09	2,08 až 9,18	Koncentrácia EBV DNA je v kvantitatívnom rozmedzí od LLoQ do ULoQ IU/ml.
> 1,50E09	> 9,18	Koncentrácia EBV DNA je nad horným limitom kvantifikácie (ULoQ).
Neplatné ^a	Neplatné ^a	Pri generovaní výsledku došlo k chybe. Preparát je nutné opätovne otestovať.

^a Neplatné výsledky sa zobrazia modrým písmom.

Obmedzenia

- A. Použitie tohto testu je limitované na personál, ktorý je vyškolený ohľadom tohto postupu. Ak nedodržíte tieto pokyny, môže to viesť k chybným výsledkom.
- B. Spoľahlivé výsledky závisia od adekvátneho odberu preparátov, transportu, uchovávaní a spracovania.
- C. Predchádzajte kontaminácii dodržiavaním správnej laboratórnej praxe a postupov špecifikovaných v tomto príbalovom letáku.
- D. Mutácie vo vysoko konzervovaných oblastiach vírusového genómu krytých primermi a/alebo sondami v teste Panther Fusion EBV Quant, aj keď vzácne, môžu viesť k zníženej identifikácii alebo nedetegovaniu vírusu.
- E. Negatívne výsledky nevylučujú infekciu EBV a nesmú sa použiť ako jediný základ pre liečbu alebo iné rozhodnutia o manažmente pacienta.
- F. Pozitívny výsledok určuje detekciu nukleovej kyseliny relevantného vírusu. Nukleová kyselina môže pretrvávať aj po tom, čo vírus už nie je životaschopný.

Výkonnosť

Limit detekcie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO

Limit detekcie (LoD) testu je definovaný ako koncentrácia EBV DNA detegovaná s pravdepodobnosťou 95 % alebo vyššou podľa dokumentu CLSI EP17-A2.⁸

Limit detekcie podľa štandardu WHO v plazme

LoD bol stanovený testovaním panelov 1. medzinárodného štandardu WHO (kód NIBSC 09/260) pre EBV nariedeného v EBV negatívnej ľudskej plazme. Testovalo sa dvadsať (20) replikátov každého riedenia s každou z troch šarží reagensí, čo predstavuje celkovo 60 replikátov na riedenie. Bola vykonaná probitová analýza s cieľom získať predikované limity detekcie. Hodnoty LoD uvedené v Tabuľka 3 sú výsledkom pre šaržu reagensí s najvyšším predikovaným limitom detekcie. LoD testu Panther Fusion EBV Quant podľa 1. medzinárodného štandardu WHO je 54,1 IU/ml pre plazmu.

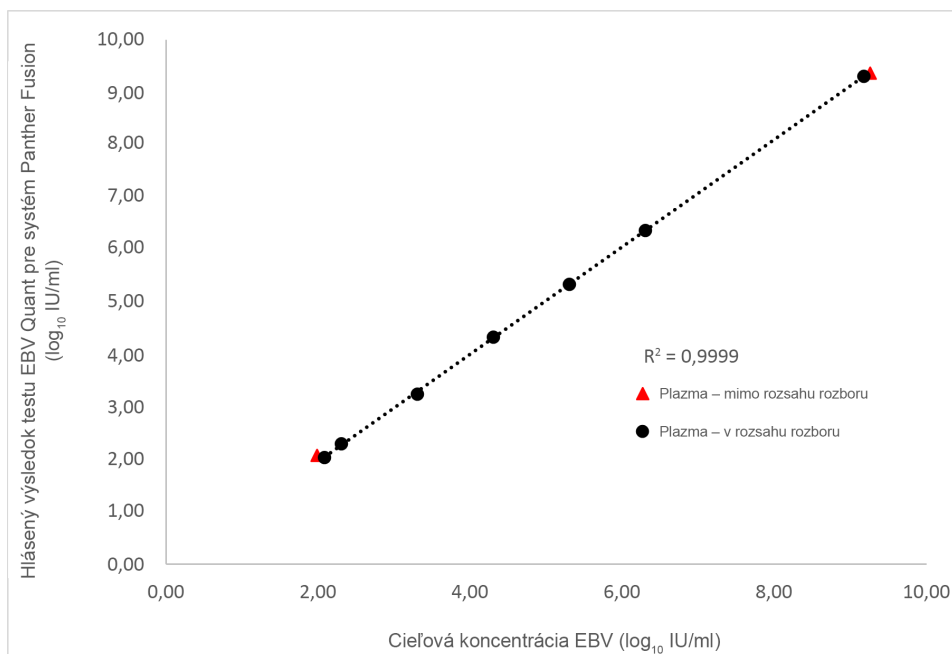
Tabuľka 3: Limit detekcie pre plazmu podľa 1. medzinárodného štandardu WHO pre EBV

Predikovaný limit detekcie	Koncentrácia (IU/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

Lineárny rozsah

Lineárny rozsah v plazme

Lineárny rozsah bol stanovený testovaním panelov EBV riedených v EBV negatívnych vzorkách ľudskej plazmy podľa normy CLSI EP06-A.⁹ Rozsah koncentrácií panelov bol od 1,98 log IU/ml po 9,26 log IU/ml. Test Panther Fusion EBV Quant preukázal linearitu v celom testovanom rozsahu. Horný limit kvantifikácie (ULoQ) testu je 9,18 log IU/ml, ako je uvedené v Obrázok 1.



Obrázok 1. Linearita v plazme

Horný limit kvantifikácie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO

Dolný limit kvantifikácie (LLOQ) je definovaný ako najnižšia koncentrácia, pri ktorej je EBV spoľahlivo kvantifikovaný podľa normy CLSI EP17-A2.⁸ Celková chyba bola odhadnutá pomocou Westgardovho modelu: Celková chyba (TE) = |systémová chyba| + 2 SD. Na zabezpečenie presnosti a správnosti meraní bola celková chyba testu Panther Fusion EBV Quant stanovená na 1,2 log IU/ml, pričom skreslenie od pravdivosti a SD musia byť ≤ 0,5 log IU/ml resp. ≤ 0,35 log IU/ml.

Dolný limit kvantifikácie podľa štandardu WHO v plazme

LLOQ bol stanovený testovaním panelov 1. medzinárodného štandardu WHO (kód NIBSC 09/260) pre EBV nariadeného v EBV negatívnej ľudskej plazme. Testovalo sa dvadsať (20) replikátov každého riedenia s každou z troch šarží reagensií, čo predstavuje celkovo 60 replikátov na riedenie. Výsledky LLOQ pre tri šarže reagensie sú uvedené v Tabuľka 4. LLOQ vytvorený podľa 1. medzinárodného štandardu WHO pre EBV v plazme je 120 IU/ml (2,08 log IU/ml).

Tabuľka 4: Stanovenie LLoQ podľa 1. medzinárodného štandardu WHO pre EBV nariedeného v plazme

Šarža reagentie	N	N detegovaných	Cieľová koncentrácia (log IU/ml)	Test EBV Quant (log IU/ml)	SD (log IU/ml)	Systémová chyba (log IU/ml)	Vypočítaná hodnota TE (log IU/ml)
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

SD = smerodajná odchýlka $\leq 0,35$ (log IU/ml).|Systémová chyba| = skreslenie od pravdivosti $\leq 0,5$ (log IU/ml).

Riedenie zodpovedajúce koncentracii LLoQ a testované na každej šarži reagentie je zvýraznené sivou farbou.

Stanovenie dolného limitu kvantifikácie u rôznych genotypov EBV

Dolný limit kvantifikácie u rôznych genotypov v plazme

LLoQ stanovený pomocou štandardu WHO bol hodnotený testovaním genotypov EBV 1 (Raji, Akata a B95-8) a 2 (AG876, P3H1 a Jijoye) s vrcholom 3-násobku LLoQ v EBV negatívnej ľudskej plazme. Testovali sa tri replikáty každého člena panelu s jednou šaržou reagentie. Výsledky uvádza Tabuľka 5.

Tabuľka 5: Potvrdenie LLoQ v rôznych genotypoch v plazme

Izolát (genotyp)	N	N detegovaných	Cieľová koncentrácia (log IU/ml)	Test EBV Quant (log IU/ml)	SD (log IU/ml)	Systémová chyba (log IU/ml)
Raji (genotyp 1)	3	3	2,56	2,84	0,12	0,3
Akata (genotyp 1)	3	3	2,56	2,95	0,11	0,4
B95-8 (genotyp 1)	3	3	2,56	2,59	0,08	0,1
AG876 (genotyp 2)	3	3	2,56	2,72	0,23	0,2
P3H1 (genotyp 2)	3	3	2,56	2,91	0,07	0,4
Jijoye (genotyp 2)	3	3	2,56	2,75	0,16	0,2

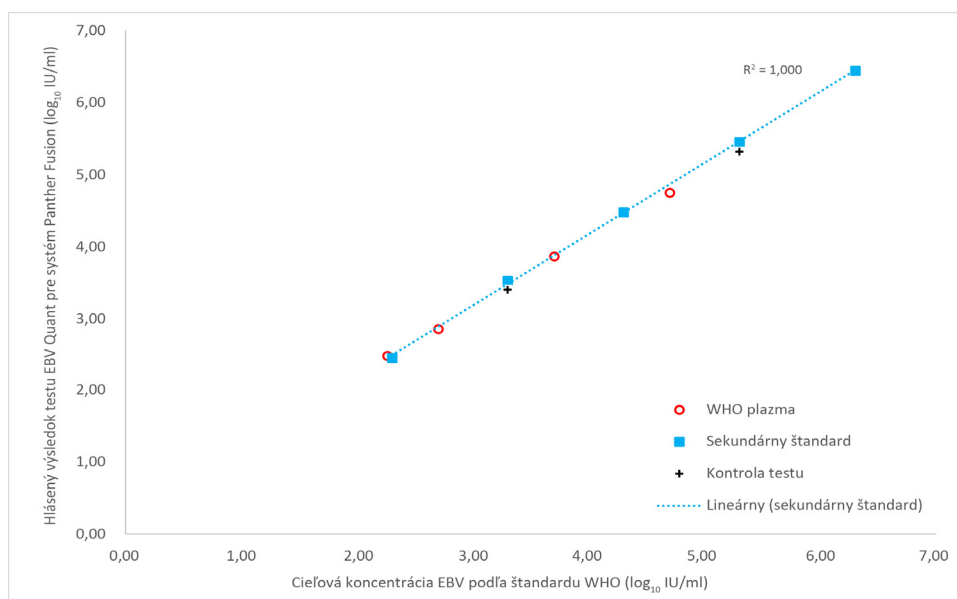
SD = smerodajná odchýlka.

Sledovateľnosť k 1. medzinárodnému štandardu WHO

Na stanovenie sledovateľnosti k štandardu WHO sa počas vývoja a výroby produktu používala séria sekundárnych štandardov so známymi koncentráciami. 1. štandard WHO pre EBV bol nariadený a testovaný spolu so sekundárnymi štandardmi, ako aj s kontrolami testu a kalibrátormi používanými v teste Panther Fusion EBV Quant na vyhodnotenie sledovateľnosti podľa normy CLSI EP32-R.¹⁰ Koncentrácia sekundárnych štandardov sa pohybovala od 2,30 do 6,30 log₁₀ IU/ml.

Sledovateľnosť k štandardu WHO pri použití plazmy

Koncentrácie testované pre 1. štandard WHO pre EBV boli medzi 2,26 a 4,70 log₁₀ IU/ml. Plazmatické panely WHO, sekundárne štandardy, kontroly testu a kalibrátory testu priniesli výsledky podľa očakávania v celom lineárnom rozsahu testu, ako je vidieť na Obrázok 2.



Obrázok 2. Sledovateľnosť medzi cieľovými koncentráciami 1. štandardu WHO pre EBV a hlásenými koncentráciami v teste Panther Fusion EBV Quant (štandard WHO nariadený v plazme)

Presnosť v rámci laboratória

Na posúdenie presnosti v rámci laboratória bol vytvorený 2-členný pozitívny panel zriedením DNA vírusu EBV do plazmy negatívnej na EBV. Vzorky plazmy pozitívneho panela testovali 2 operátori použitím 3 šarží reagentov na 3 systémoch Panther Fusion počas 6 testovacích dní, ktoré nenasledovali po sebe. Každý člen panela bol v každom chode testovaný triplicitne. Výsledky sa analyzovali podľa odporúčaní CLSI EP-05-A3¹¹.

V tabuľke 6 sa uvádza reprodukovateľnosť výsledkov testu (v log IU/ml) pre pozitívny panel medzi prístrojmi, operátormi, šaržami kaziet, chodmi, dňami, v rámci chodov a celkovo.

Tabuľka 6: Reprodukovateľnosť testu EBV Quant pre systém Panther Fusion vo vzorkách plazmy

N	Priemerná koncentrácia (log IU/ml)	Medzi Lot (Šarža)	Medzi prístrojmi	Medzi operátormi	Medzi dňami	Medzi chodu	V rámci chodu	Spolu
		SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
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

SD = smerodajná odchýlka.

Potenciálne interferujúce látky

Citlivosť testu EBV Quant pre systém Panther Fusion na interferenciu zvýšenými hladinami endogénnych látok, antikoagulancií a liekov, ktoré sa bežne predpisujú pacientom po transplantácii, sa hodnotila v negatívnom matrixe plazmy v prítomnosti alebo neprítomnosti 2,56 log IU/ml EBV v plazme. Testovacie koncentrácie pre každú z interferujúcich látok boli vybrané na základe dostupných literárnych odkazov a usmernení CLSI EP07¹² a EP37.¹³

Vo vzorkách plazmy v prítomnosti potenciálnych interferujúcich endogénnych látok uvedených v Tabuľka 7 sa nepozorovala žiadna interferencia v presnosti kvantifikácie testu.

Tabuľka 7: Endogénne látky

Potenciálna interferujúca látka	Počet replikátov	Testovaná koncentrácia
Albumín	3	375 mg/dl
Konjugovaný bilirubín	3	40 mg/dl
Hemoglobín	3	1 000 mg/dl
Heparín	3	0,66 mg/dl
Ľudská genómová DNA	3	0,2 mg/ml
Triglyceridy	3	3,45 mg/dl
Nekonjugovaný bilirubín	3	0,40 mg/dl

V prítomnosti exogénnych látok uvedených v Tabuľka 8 sa nepozorovala žiadna interferencia v presnosti kvantifikácie testu.

Tabuľka 8: Exogénne látky

Potenciálna interferujúca látka	Počet replikátov	Testovaná koncentrácia
Acyklovir	3	6,6 mg/dl
Azatioprin	3	0,258 mg/dl
Cefotetán	3	71,1 mg/dl
Cidofovir	3	12,4 mg/dl
Klavulanát draselný	3	1,47 mg/ml
Cyklosporín	3	0,180 mg/dl
EDTA	3	0,099 mg/dl
Everolimus	3	0,0183 mg/dl
Flukonazol	3	2,55 mg/dl
Foskarnet	3	108 mg/dl
Ganciclovir	3	3,96 mg/dl
Letermovir	3	3,9 mg/dl
Mykofenolát mofetil	3	18,1 mg/dl
Kyselina mykofenolová	3	18,1 mg/dl
Piperacilín	3	110 mg/dl
Prednizón	3	0,0099 mg/dl
Sirolimus	3	0,0213 mg/dl
Citrát sodný	3	3 200 mg/dl
Sulfametoxazol	3	35,7 mg/dl
Takrolimus	3	0,0144 mg/dl
Tazobaktam sodný	3	10,2 mg/dl
Tenofovir-dizoproxilfumarát	3	0,0978 mg/dl
Tikarcilín disodný	3	151 mg/dl
Trimetoprim	3	4,2 mg/dl
Valaciklovir	3	3,83 mg/dl
Valganciklovir	3	4,83 mg/dl
Vankomycín	3	12 mg/dl

Analytická špecificita

Potenciálna skrížená reaktivita s patogénmi uvedenými v Tabuľka 9 bola hodnotená v EBV-negatívnych matriciach v prítomnosti alebo neprítomnosti 2,56 log IU/ml EBV v plazme. Patogény boli testované pri najvyššej dostupnej koncentrácii. Nebola pozorovaná žiadna krížová reaktivita ani interferencia v presnosti kvantifikácie.

Tabuľka 9: Patogény testované na analytickú špecificitu

Mikroorganizmus/patogén	Koncentrácia	Mikroorganizmus/patogén	Koncentrácia
ADV-4	1,00E+04 TCID ₅₀ /ml	Ľudský vírus parainfluenzy	1,00E+05 IU/ml
<i>Aspergillus niger</i>	1,00E+06 CFU/ml	Vírus chrípky typu A	1,00E+05 IU/ml
BKV	5,00E+06 cp/ml	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06 cp/ml
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,00E+06 IFU/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 CFU/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,00E+06 CFU/ml	Rinovírus	1,00E+06 cp/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Salmonella enterica</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 CFU/ml
HBV	1,00E+05 IU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 CFU/ml
HCV	1,00E+04 IU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,00E+06 CFU/ml
HIV-1	1,00E+05 IU/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/ml
HPV-18 (infikované bunky HeLa)	1,00E+05 buniek/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 CFU/ml
Ľudský herpes vírus 6	1,00E+05 cp/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,00E+05 trofozoitov/ml
Ľudský herpes vírus 7	1,00E+03 TCID ₅₀ /ml	Vírus Varicella Zoster	1,00E+05 cp/ml
Ľudský herpes vírus 8	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,00E+06 CFU/ml
Ľudský metapneumovírus	1,00E+03 IU/ml	Vírus zika	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml

CCU/ml = jednotky meniace kolónie/ml.

CFU/ml = jednotky tvoriace kolónie na ml.

cp/ml = počet kópií na ml.

IFU/ml = jednotky tvoriace inklúzie na ml.

IU/ml = medzinárodné jednotky na ml.

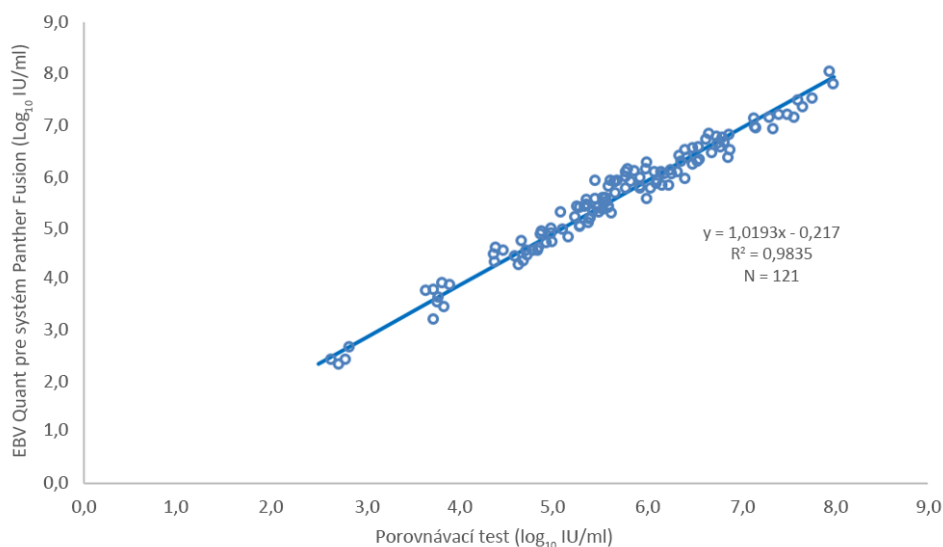
TCID₅₀/ml = jednotky infekčnej dávky pre tkanivovú kultúru na ml.

Korelácia metód

Táto štúdia bola navrhnutá v súlade s dokumentom CLSI EP09c.¹⁴

Korelácia metód pre plazmu

Výkonnosť testu Panther Fusion EBV Quant bola hodnotená oproti porovnávaciemu testu testovaním retrospektívne odobratých preparátov a umelých preparátov pokrývajúcich celý lineárny rozsah. Celkom 121 preparátov v lineárnom rozsahu spoločnom pre oba testy bolo použitých v Demingovej regresii a preukázal sa koeficient korelácie 98,35 %, ako znázorňuje Obrázok 3.



Obrázok 3. Korelácia medzi vírusovou náložou EBV v teste EBV Quant pre systém Panther Fusion a porovnávacom teste pri testovaní vzoriek plazmy

Prenos/křížová kontaminácia

Prenos sa hodnotil pomocou vzoriek STM s vysokým titrom EBV (1,5E+09 IU/ml) rozptýlených medzi EBV negatívne vzorky v šachovnicovom vzore. Testovanie prebehlo v 5 chodoch. Celková miera prenosu bola 0,67 % (1/150).

Literatúra

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 (ICHS) 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. Clinical & Laboratory Standards Institute (Klinický a laboratórny štandardný inštitút). Document M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI Web site <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (April 4, 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. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. 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.
14. 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.

Kontaktné údaje a história revízií



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



Zodpovedná osoba v Spojenom kráľovstve:
Hologic Ltd.
Oaks Business Park, Crewe Road
Wythenshawe, Manchester, M23 9HZ
Spojené kráľovstvo

Austrálsky zadávateľ:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park, NSW 2113

E-mailovú adresu a telefónne číslo na technickú podporu a zákaznícky servis pre konkrétnu krajinu nájdete na stránkach www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion a príslušné logá sú ochranné známky a/alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách.

Quasar je registrovaná ochranná známka a je licencovaná spoločnosťou Biosearch Technologies, Inc.

Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov amerických, ktoré sú uvedené na stránkach www.hologic.com/patents.

©2022-2025 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-26019-3201 Rev. 001
2025-03

História revízií	Dátum	Popis
AW-26019 Rev. 003	Marec 2025	Táto verzia je v súlade s AW-26019-001 Rev. 003. (This version aligns with AW-26019-001 Rev. 003.)