

Test BKV Quant (system Panther Fusion®)

Do diagnostyki *in vitro*

Tylko na eksport poza USA

SPIS TREŚCI

Informacje ogólne	2
Zastosowanie	2
Podsumowanie i objaśnienie testu	2
Zasady procedury	2
Ostrzeżenia i środki ostrożności	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi	7
Pobieranie, przetwarzanie i przechowywanie próbek	8
Próbki w aparacie systemu Panther Fusion	10
Transport próbek	10
Panther Fusion System	11
Odczynniki i materiały dostarczane dla testu Panther Fusion BKV Quant	11
Materiały wymagane i dostępne osobno	12
Materiały opcjonalne	13
Procedura testu w systemie Panther Fusion	13
Uwagi dotyczące procedur	18
Kontrola jakości	20
Kalibracja testu	20
Kontrole ujemne i dodatnie	20
Kontrola wewnętrzna	21
Interpretacja wyników	21
Ograniczenia	23
Skuteczność	24
Granica wykrywalności przy zastosowaniu 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO	24
Zakres liniowy	25
Dolna granica oznaczenia ilościowego przy zastosowaniu 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO	26
Potwierdzenie dolnej granicy oznaczenia ilościowego dla różnych genotypów BKV	28
Identyfikowalność według 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO	29
Precyzja w obrębie laboratorium	30
Substancje powodujące potencjalne interferencje	31
Swoistość analityczna	33
Korelacja metod	34
Przenoszenie/zanieczyszczenie krzyżowe	36
Bibliografia	37
Dane kontaktowe i historia wersji	38

Informacje ogólne

Zastosowanie

Test Panther Fusion® BKV Quant jest w pełni zautomatyzowanym testem amplifikacji kwasu nukleinowego w czasie rzeczywistym (RT-PCR) *in vitro*, służącym do oznaczenia ilościowego DNA ludzkiego wirusa BK (BKV) w próbkach ludzkiego osocza i moczu.

Test Panther Fusion BKV Quant stanowi pomoc w diagnozowaniu i leczeniu pacjentów po przeszczepie narządów litych i pacjentów po przeszczepie krwiotwórczych komórek macierzystych.

Test Panther Fusion BKV Quant nie jest przeznaczony do stosowania jako test przesiewowy na obecność wirusa BK (BKV) we krwi lub moczu. Ten test przeznaczony jest do użytkowania z systemem Panther Fusion.

Podsumowanie i objaśnienie testu

BKV jest bardzo rozpowszechnionym małym wirusem bezotoczkowym z zamkniętym okrągłym genomem dwuniciowego DNA. BKV jest ludzkim poliomawirusem należącym do rodziny papovaviridae.

Pierwotna ekspozycja na wirusa BK (BKV) ma miejsce w dzieciństwie, w wyniku czego u 80-90% dorosłych rozwijają się przeciwciała przeciwko BKV. Większość pierwotnych zakażeń BKV przebiega bezobjawowo lub z minimalnymi objawami. Uważa się, że po pierwotnym zakażeniu wirus pozostaje w postaci utajonej w drogach moczowych nie wywołując objawów chorobowych u osób z prawidłową odpornością.¹

Do reaktywacji wirusa dochodzi u osób z obniżoną odpornością i często występuje to u pacjentów po przeszczepie nerki oraz pacjentów po transplantacji hematopoetycznych komórek macierzystych (HSCT). U pacjentów po przeszczepieniu nerki reaktywacja BKV wywołuje nefropatię (BKVN) i zwężenie moczowodu. BKVN występuje u około 5% pacjentów po przeszczepieniu nerki w ciągu jednego roku od transplantacji. Reaktywacja BKV jest niebezpieczna u biorców HSCT z krwotocznym zapaleniem pęcherza moczowego o późnym początku, występującym u 6-29% pacjentów w ciągu 2 miesięcy od przeszczepienia.²

Ilościowe badanie amplifikacji kwasu nukleinowego z próbek osocza lub moczu jest ważnym markerem laboratoryjnym w diagnostyce i monitorowaniu zakażenia BKV u biorców przeszczepów. Najnowsze wytyczne zalecają, aby pacjentów po przeszczepieniu nerki regularnie badać pod kątem poziomu DNA BKV w osoczu po przeszczepie w celu identyfikacji pacjentów, u których należy rozważyć zastosowanie zapobiegawczego leczenia nefropatii. Ryzyko rozwoju BKVN wzrasta w przypadku zaobserwowania wysokiego poziomu DNA BKV w osoczu lub moczu, ale może wystąpić u pacjentów z niższym poziomem BKV.^{3,4}

Zasady procedury

System Panther Fusion w pełni automatyzuje przetwarzanie próbek, w tym lizę komórek, wychwytywanie kwasów nukleinowych, amplifikację i wykrywanie na potrzeby testu Panther Fusion BKV Quant. Częstką szukaną testu Panther Fusion BKV Quant jest wysoce konserwatywny gen VP2. Test umożliwia dokładne oznaczenie ilościowe DNA BKV. Test jest standaryzowany do 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO (kod NIBSC: 14/212) dla BKV.⁵

Przetwarzanie próbki i wychwyt kwasu nukleinowego: Kontrola wewnętrzna (IC-B) jest dodawana automatycznie do każdej próbki poprzez obróbkę odczynnika wychytującego systemu Panther Fusion (Fusion Capture Reagent-B) (wFCR-B) do monitorowania interferencji podczas przetwarzania próbki, amplifikacji i wykrywania spowodowanych brakiem działania odczynnika lub substancjami hamującymi. Próbkę są najpierw dodawane do Fusion Capture Reagent-B (FCR-B) i odczynnika Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) w celu uwolnienia kwasu nukleinowego do hybrydyzacji z cząstkami magnetycznymi. Wychwytywane cząstki są następnie oddzielane od pozostałości matrycy próbki w polu magnetycznym w serii etapów przemywania łagodnym detergentem. Wychwycony kwas nukleinowy jest następnie poddany elucji z cząstek magnetycznych za pomocą odczynnika o niskiej sile jonowej (bufor elucyjny Panther Fusion).

Uwaga: System Panther Fusion doda odczynnik IC-B do odczynnika FCR-B. Odczynnik powstały po dodaniu odczynnika IC-B do odczynnika FCR-B nazywany jest wFCR-B.

Amplifikacja PCR i wykrywanie fluorescencji: Liofilizowany Master Mix PCR z jedną dawką jest odtwarzany za pomocą buforu do przygotowywania Panther Fusion i łączony z eluowanym kwasem nukleinowym w fiole reakcyjnej. Odczynnik Panther Fusion Oil dodaje się, aby zapobiec parowaniu podczas reakcji PCR. Amplifikacja cząsteczek szukanych oparta na PCR zachodzi następnie przy użyciu swoistych dla danego elementu szukanego starterów w przód i w tył, generując sygnał fluorescencyjny.

System Panther Fusion zapewnia wartość Ct proporcjonalną do stężenia BKV w badanych próbkach. Stężenie próbki jest oznaczane przez oprogramowanie systemu Panther Fusion z wykorzystaniem wartości Ct BKV dla każdej reakcji i porównanie ich z krzywą kalibracji. Wyniki dla BKV są podawane w j.m./ml i $\log_{10}$ j.m./ml zarówno dla próbek osocza jak i moczu. Gdy w oprogramowaniu Panther Fusion zostanie wybrany współczynnik konwersji moczu, do wyników wirerii BKV zostanie automatycznie zastosowany współczynnik rozcieńczenia wynoszący 2, aby uwzględnić etap rozcieńczenia podczas przetwarzania próbki moczu.

Elementy szukane i kanały użyte do ich wykrycia w systemie Panther Fusion zostały zestawione w tabeli poniżej:

Element szukany	Szukany gen	Kanał przyrządu
BKV	VP2	ROX
Kontrola wewnętrzna	Nie dotyczy	Quasar® 705

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do diagnostyki *in vitro*.
- B. Do użycia przez profesjonalistów.
- C. Przed wykonaniem testu uważnie przeczytaj całą ulotkę załączoną do opakowania i *Instrukcja obsługi systemu Panther®/Panther Fusion*.
- D. Odczynnik wzmacniający Panther Fusion-B (FER-B) jest żrący, szkodliwy po połknięciu i powoduje poważne oparzenia skóry i uszkodzenie oczu.
- E. Test ten powinien wykonywać jedynie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania tego testu oraz z zakresu postępowania z materiałem zakaźnym. Jeśli dojdzie do rozlania, natychmiast zdezynfekować, stosując odpowiednie procedury w miejscu pracy.
- F. Próbkki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności. Właściwe metody postępowania z próbkami oraz utylizacji próbek powinien określić kierownik laboratorium. Do wykonania opisywanej tutaj procedury diagnostycznej może być dopuszczony wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie postępowania z materiałami zakaźnymi.*
- G. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie pipetować ustami. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić jednorazowe, bezpudrowe rękawiczki, okulary ochronne i fartuchy laboratoryjne. Po zakończeniu pracy z próbkami i odczynnikami należy umyć ręce.
- H. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- I. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M).
- J. Wszystkie materiały, które miały kontakt z preparatami i odczynnikami należy usuwać zgodnie z obowiązującymi przepisami krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi.
- K. Podczas transportu próbek należy utrzymywać właściwe warunki przechowywania, aby zapewnić integralność próbek. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- L. Nie dopuszczać do zanieczyszczenia krzyżowego podczas etapów pracy z próbkami. Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć kontaminacji poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu w czasie odkręcania lub zdejmowania zakrętek z próbek. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie wirusów lub innych organizmów. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie wchodziły we wzajemny kontakt oraz utylizować zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbkami.
- M. Nie używać odczynników, kalibratorów lub kontroli po upływie daty ważności. Nie używać probówki do transportu próbek moczu Aptima® po upływie daty ważności.

- N. Składniki testu należy przechowywać w zalecanych warunkach przechowywania. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi* i *Procedura testu w systemie Panther Fusion*.
- O. Nie należy łączyć żadnych odczynników analitycznych ani płynów. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami; system Panther Fusion weryfikuje poziomy odczynników.
- P. Unikać kontaminacji odczynników przez drobnoustroje i nukleazy.
- Q. Wymagania dotyczące kontroli jakości muszą być zgodnie z przepisami lokalnymi, stanowymi lub federalnymi lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji i standardowych procedur kontroli jakości laboratorium.
- R. Nie wolno używać wkładu testowego, jeśli torebka do przechowywania utraciła szczelność lub jeśli folia wkładu testowego jest naruszona. W powyższych przypadkach należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Hologic.
- S. Nie wolno używać pakietów płynu, jeśli plomba foliowa jest naruszona. W takich przypadkach należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Hologic.
- T. Należy postępować z wkładami testowymi w sposób ostrożny. Nie upuszczać ani nie odwracać wkładów testowych. Unikać dłuższego wystawiania na światło otoczenia.
- U. Niektóre odczynniki w tym zestawie są opatrzone informacjami o zagrożeniach.

Uwaga: Stosowane informacje dotyczące zagrożeń są określone przez klasyfikacje kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheets, SDS) obowiązujące w UE. Informacje dotyczące zagrożeń występujących w konkretnym regionie opisano w kartach SDS właściwych dla regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem www.hologicsds.com. Więcej informacji na temat symboli zawiera legenda symboli dostępna pod adresem www.hologic.com/package-inserts.

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
Wkład testów Panther Fusion BKV Quant ALFA-CYKLODEKSTRYNA 20–25%	
—	H412 - Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 - Unikać uwolnienia do środowiska. P501 - Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
Odczynnik przechwytyjący Panther Fusion Capture Reagent-B (FCR-B) HEPES 15–20% LAURYLOSIARCZAN LITU 10–15% KWAS BURSZTYNOWY 1–5% WODOROTLENEK LITU, MONOHYDRAT 1-5%	
—	H412 - Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 - Unikać uwolnienia do środowiska. P501 - Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.

**Odczynnik wzmacniający Panther Fusion B (FER-B)****WODOROTLENEK LITU, MONOHYDRAT 5-10%****NIEBEZPIECZEŃSTWO**

H302 - Działa szkodliwie po połknięciu.

H314 - Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.

P264 - Dokładnie umyć twarz, ręce i wszelkie narażone powierzchnie skóry po użyciu.

P270 - Nie jeść, nie pić i nie palić podczas używania produktu.

P330 - Wypłukać usta.

P501 - Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.

P260 - Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.

P280 - Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P301 + P330 + P331 - W PRZYPADKU POŁKNIECIA: wypłukać usta. NIE wywoływać wymiotów.

P303 + P361 + P353 - W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody [lub prysznicem].

P304 + P340 - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania.

P305 + P351 + P338 - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P310 - Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem.

P321 - Zastosować określone leczenie (patrz dodatkowa instrukcja w zakresie pierwszej pomocy na etykiecie).

P363 - Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem.

P405 - Przechowywać pod zamknięciem.

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

A. Poniższa tabela zawiera wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania tego testu.

Odczynnik	Przechowywanie nieotwartych odczynników	Stabilność odczynnika w aparacie/ Stabilność po otwarciu ¹	Przechowywanie otwartych odczynników
Wkład testów Panther Fusion BKV Quant	2°C do 8°C	60 dni	2°C do 8°C ²
Odczynnik przechwytyjący Panther Fusion Capture Reagent-B (FCR-B)	15°C do 30°C	30 dni	15°C do 30°C
Odczynnik wzmacniający Panther Fusion B (FER-B)	15°C do 30°C	30 dni	15°C do 30°C
Kontrola wewnętrzna Panther Fusion B (IC-B)	2°C do 8°C	(W wFCR-B)	Nie dotyczy
Bufor elucyjny Panther Fusion	15°C do 30°C	60 dni	15°C do 30°C
Olej Panther Fusion	15°C do 30°C	60 dni	15°C do 30°C
Bufor do rekonstrukcji Panther Fusion I	15°C do 30°C	60 dni	15°C do 30°C
Kalibratory testów Fusion BKV Quant (1-5)	-15°C do -35°C	Fiolka jednorazowego użytku	Nie dotyczy – do jednorazowego użytku
Kontrola wysoko dodatnia Panther Fusion EBV–BKV Quant	-15°C do -35°C	Fiolka jednorazowego użytku	Nie dotyczy – do jednorazowego użytku
Kontrola nisko dodatnia Panther Fusion EBV–BKV Quant	-15°C do -35°C	Fiolka jednorazowego użytku	Nie dotyczy – do jednorazowego użytku
Kontrola ujemna Panther Fusion Transplant (III)	-15°C do -35°C	Fiolka jednorazowego użytku	Nie dotyczy – do jednorazowego użytku

Po wyjęciu odczynników z systemu Panther Fusion należy natychmiast ponownie umieścić je w miejscu o temperaturze odpowiedniej do ich przechowywania.

¹ Stabilność odczynnika w aparacie rozpoczyna się od momentu umieszczenia odczynnika w systemie Panther Fusion dla wkładu testowego Panther Fusion BKV Quant oraz odczynników FCR-B, FER-B i IC-B. Stabilność odczynnika w aparacie dla bufora do rekonstrukcji Panther Fusion I, bufora elucyjnego Panther Fusion i oleju Panther Fusion rozpoczyna się od momentu pierwszego użycia pakietu odczynnika.

² Po usunięciu z systemu Panther Fusion wkład testowy należy umieścić w szczelnym opakowaniu ze środkiem osuszającym, w miejscu o zalecanej temperaturze dla przechowywania.

B. Robocze odczynniki przechwytyjące Panther Fusion B (wFCR-B) i odczynniki wzmacniające Panther Fusion B (FER-B) są stabilne przez 60 dni, gdy są zamknięte korkiem i przechowywane w temperaturze od 15°C do 30°C. Nie należy przechowywać go w lodówce.

C. Należy utylizować wszelkie nieużyte odczynniki, których termin stabilności minął.

D. W trakcie obchodzenia się z odczynnikami i ich przechowywania unikać zanieczyszczenia krzyżowego.

E. **Nie zamrażać odczynników.**

F. **Nie zamrażać ponownie kontroli ani kalibratorów.**

Pobieranie, przetwarzanie i przechowywanie próbek

Próbki pobrane – materiał kliniczny pobrany od pacjenta i umieszczony w odpowiednim systemie transportowym. W przypadku testu Panther Fusion BKV Quant obejmuje to próbki moczu zebrane w pojemniku głównym, próbki osocza w probówkach zawierających antykoagulanty EDTA lub probówki do przygotowania osocza (PPT).

Próbki – jest to bardziej ogólny termin opisujący każdy materiał przeznaczony do badań w systemie Panther Fusion, w tym próbki, przetworzone próbki przeniesione do probówki do transportu próbek moczu Aptima, kalibratory i kontrole.

Uwaga: *Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.*

Uwaga: *Starać się unikać zanieczyszczenia krzyżowego w czasie etapów pracy z materiałem. Należy na przykład wyrzucać zużyty materiał bez przemieszczania go nad otwartymi probówkami.*

Uwaga: *Do przechowywania próbek zalecane są wyłącznie plastikowe probówki wtórne.*

A. Pobieranie próbek

1. Do przygotowania osocza można użyć preparatów krwi pełnej zebranych w poniższych szklanych lub plastikowych probówkach:
 - Probówki zawierające antykoagulanty EDTA
 - Probówki do przygotowania osocza (PPT)
2. Probki moczu należy pobrać do kubka.
 - Po pobraniu próbki moczu należy przenieść z głównego pojemnika do pobierania do próbki Aptima do transportu próbek moczu w ciągu godziny przy temperaturze 30°C lub w ciągu 6 godzin, jeśli próbka przechowywana jest w temperaturze od 2°C do 8°C.
 - Przed zbadaniem próbek moczu należy dokładnie wymieszać mocz w naczyniu głównym poprzez odwrócenie, a następnie przenieść go do probówki do transportu próbki moczu Aptima zawierającej podłoże do transportu moczu.

B. Przetwarzanie próbek

1. Przetwarzanie preparatów osocza:
 - Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 24 godzin od pobrania próbki.
 - Osocze można przygotować z probówek pierwotnych z EDTA lub PPT.
 - Oddzielić osocze od skoagulowanych krwinek czerwonych, postępując zgodnie z instrukcjami producenta używanej probówki.
 - Osocze może być badane w systemie Panther Fusion w probówce pierwotnej lub przeniesione do probówki dodatkowej, takiej jak probówka Aptima® do porcjowania preparatów (SAT). Aby zapewnić odpowiednią objętość próbki, należy zapoznać się z poniższą tabelą:

Tabela 1: Minimalna objętość próbek

Probówka (rozmiar i typ)	Minimalna objętość dla 1 replikatu
Probówka do porcjowania próbek Aptima (SAT)	0,6 ml
12x75 mm	0,9 ml
13x100 mm	0,9 ml
13x100 mm z żelem	0,7 ml
16x100 mm z żelem	1,1 ml

- Jeżeli nie jest testowane natychmiast, osocze może być przechowywane zgodnie z *Warunki przechowywania próbek*.
 - Jeśli osocze zostanie przeniesione do dodatkowej probówki, można je zamrozić w temperaturze -20°C.
 - Nie zamrażać próbek osocza w probówkach do pobierania pierwotnego z EDTA.
2. Przetwarzanie preparatów moczu:
- Należy przenieść 2000 µl moczu do probówki Aptima do przechowywania próbek moczu w ciągu godziny przy temperaturze 30°C lub w ciągu 6 godzin, jeśli mocz jest przechowywany w temperaturze od 2°C do 8°C (informacje na temat postępowania z próbkami znajdują się w *Postępowanie z próbkami moczu*).
 - Założyć zakrętkę i delikatnie wymieszać próbkę przez co najmniej 5 sekund.

C. Warunki przechowywania próbek

Próbki można przechowywać w jednym z następujących warunków:

1. Stabilność osocza

- Nieprzetworzone próbki zachowują stabilność przez 24 godziny w temperaturze od 2°C do 30°C po odwirowaniu.
- Nieprzetworzone próbki zachowują stabilność przez 5 dni w temperaturze od 2°C do 8°C po odwirowaniu.
- Zarówno nieprzetworzone, jak i przetworzone próbki zachowują stabilność przez 60 dni w temperaturze -20°C po odwirowaniu.
- Zamrożone próbki zachowują stabilność do trzech cykli zamrażania/rozmrażania.

2. Stabilność próbek moczu

- Nieprzetworzone próbki zachowują stabilność przez 6 godzin w temperaturze od 2°C do 8°C lub przez 1 godzinę w temperaturze 30°C.
- Przetworzone próbki zachowują stabilność przez 24 godzin w temperaturze od 2°C do 30°C.
- Przetworzone próbki zachowują stabilność przez 5 godzin w temperaturze od 2°C do 8°C.
- Przetworzone próbki zachowują stabilność przez 60 dni w temperaturze od -20°C.
- Zamrożone próbki zachowują stabilność do trzech cykli zamrażania/rozmrażania.

Próbki w aparacie systemu Panther Fusion

Przetworzone próbki osocza i moczu można pozostawiać w systemie Panther Fusion bez zamknięcia na okres do 8 godzin. Próbki można wyjąć z systemu Panther Fusion i poddać badaniu, o ile całkowity czas przebywania w systemie nie przekracza 8 godzin przed pipetowaniem próbki przez system Panther Fusion.

Transport próbek

Warunki przechowywania podczas transportu próbek muszą być zgodnie z opisem w *Pobieranie, przetwarzanie i przechowywanie próbek*.

Uwaga: *Próbki należy przysyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami transportowymi.*

Panther Fusion System

System Panther Fusion jest zintegrowanym systemem do wykonywania testów kwasów nukleinowych, w którym wszystkie etapy niezbędne do wykonania różnych testów Panther Fusion są całkowicie zautomatyzowane, począwszy od przetwarzania próbki przez amplifikację do wykrywania i redukcji danych.

Odczynniki i materiały dostarczane dla testu Panther Fusion BKV Quant

Opakowanie testu

Podzespoły	Nr kat.	Przechowywanie
Kalibratory testów Panther Fusion BKV Quant		
PCAL 1 qBKV, pudełka po 3 szt.	PRD-07234	-15°C do -35°C
PCAL 2 qBKV, pudełka po 3 szt.		
PCAL 3 qBKV, pudełka po 3 szt.		
PCAL 4 qBKV, pudełka po 3 szt.		
PCAL 5 qBKV, pudełka po 3 szt.		
Kontrola testów Panther Fusion EBV–BKV Quant		
Próbówka z kontrolą wysoko dodatnią Panther Fusion HPC, 5 szt. w opakowaniu	PRD-07158	-15°C do -35°C
Próbówka z kontrolą nisko dodatnią Panther Fusion LPC, 5 szt. w opakowaniu		
Próbówka z kontrolą ujemną NC III Transplant, 5 szt. w opakowaniu		
Wkłady testowe Panther Fusion BKV Quant, 96 testów		
Wkłady testowe Panther Fusion qBKV, 12 testów, pudełka po 8 szt.	PRD-07232	2°C do 8°C
Kontrole wewnętrzne Panther Fusion-B 960 testów		
Próbówka kontroli wewnętrznej Panther Fusion-B, pudełka po 4 szt.	PRD-06234	2°C do 8°C
Testy z odczynnikiem ekstrakcyjnym Panther Fusion B 960		
Butelka odczynnika przechwytyjącego Panther Fusion B, 240 testów, pudełka po 4 szt.	PRD-06232	15°C do 30°C
Butelka odczynnika wzmacniającego Panther Fusion B, 240 testów, pudełka po 4 szt.		
Testy z buforem elucyjnym Panther Fusion, 2400		
Opakowanie buforów elucyjnych Panther Fusion, 1200 testów, pudełka po 2 szt.	PRD-04334	15°C do 30°C
Testy z buforem do rekonstrukcji Panther Fusion I, 1920		
Opakowanie buforów do rekonstrukcji Panther Fusion I, 960 testów, pudełka po 2 szt.	PRD-04333	15°C do 30°C
Testy z olejem Panther Fusion, 1920		
Olej Panther Fusion, 960 testów, pudełka po 2 szt.	PRD-04335	15°C do 30°C

Materiały wymagane i dostępne osobno

Uwaga: Dostarczane materiały Hologic mają następujące numery katalogowe, chyba że podano inne dane.

Materiał	Nr kat.
Panther® System	303095
Moduł Panther Fusion®	PRD-04173
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther System, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Zestaw płynów do testu Aptima® (Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima, odczynnik olejowy Aptima)	303014 (1000 testów)
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther	902731
Ośłona pojemnika na odpady Panther	504405
Albo zestaw wstępny do aparatu Panther System zawiera zestawy MTU, torby na odpady, pokrywy pojemników na odpady, płyny testowe i odczynniki Auto Detect*	303096 (5000 testów)
Końcówki, 1000 µl, z filtrami, z detekcją cieczy, przewodzące, jednorazowego użytku: <i>Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania informacji na temat dostępności produktu w wybranym regionie należy skontaktować się z odpowiednim przedstawicielem.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Tace na próbki Panther Fusion, 1008 testów, 18 tac w pudełku	PRD-04000
Probkówki transportowe do próbek moczu Aptima wyłącznie do przetwarzania próbek moczu	105575 (100 wstępnie napełnionych probówek na opakowanie)
Zamienne stałe korki Hologic (jednorazowe korki do probówek)	PRD-06720 (100 korków na opakowanie)
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 8,25% (od 0,7 M do 1,16 M) Uwaga: Instrukcje dotyczące przygotowywania rozcieńczonego roztworu podchlorynu znajdują się w Podręczniku operatora systemu Panther/Panther Fusion.	—
Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe	—
Wzmocnione plastikiem osłony stołu laboratoryjnego	—
Niestrzepiące się ściereczki	—
Pipetor	—
Końcówki	—
Opcje probówek do pobierania krwi (EDTA i PPT): 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—

Wirówka	—
Wstrząsarka	—

*Potrzebne jedynie dla testów Panther Aptima TMA.

Materiały opcjonalne

Material	Nr kat.
Probówki dodatkowe w opcjach:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Probówki do porcjowania próbek Aptima (SAT) (opakowanie 100 szt.)	FAB-18184
Zakrętki probówek transportowych (opakowanie 100 szt.) <i>zakrętka do SAT</i>	504415
Rozcieńczalnik do próbek Aptima	PRD-03003
Zestaw rozcieńczalnika do próbek Aptima <i>zawiera rozcieńczalnik Aptima do próbek, 100 SAT i 100 zakrętek</i>	PRD-03478
Pipety transportowe	—
Kołyska do probówek	—

Procedura testu w systemie Panther Fusion

Uwaga: Dodatkowe informacje dotyczące procedury – patrz Instrukcja obsługi systemu Panther/ Panther Fusion.

A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej minutę, a następnie powinien zostać spłukany wodą dejonizowaną. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię stołu czystymi, wzmocnionymi plastikami, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
2. Oczyszczyć odrębną powierzchnię roboczą jako miejsce do przygotowania próbek. Postępować zgodnie z procedurą opisaną powyżej (etap A.1).
3. Wyczyścić wszystkie pipety. Postępować zgodnie z procedurą czyszczenia opisaną powyżej (etap A.1).

B. Przygotowanie kalibratorów i kontroli

Przed przystąpieniem do przetwarzania kalibratory i kontrole powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C w sposób opisany poniżej:

1. Wyjąć kalibratory i kontrole z miejsca przechowywania (-15°C do -35°C) i umieścić w temperaturze 15°C do 30°C. Podczas całego procesu rozmrażania delikatnie odwracać każdą probówkę, aby dokładnie wymieszać próbki. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość próbki jest całkowicie rozmrożona.

Opcja. Probówki z kalibratorem i kontrolą można umieścić na wytrząsarce do probówek w celu dokładnego wymieszania. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość probówki jest całkowicie rozmrożona.

Uwaga: Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas odwracania kalibratora i kontroli. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez system Panther Fusion.

2. Po rozmrożeniu zawartości probówki osuszyć jej zewnętrzną część czystą, suchą ściereczką jednorazowego użytku.
3. Aby zapobiec kontaminacji, nie należy w tym momencie otwierać probówek.

C. Przygotowanie odczynnika

1. Wyjąć butelki zawierające odczynniki IC-B, FCR-B i FER-B z miejsca przechowywania.
2. Wymieszać FCR-B do pełnego zawieszenia koralików. Na tym etapie unikać tworzenia piany.
3. Otworzyć butelki zawierające odczynniki IC-B, FCR-B i FER-B i wyrzucić zakrętki. Otworzyć drzwi odczynników TCR na górnej wnęce systemu Panther Fusion.
4. Umieścić butelki z odczynnikiem IC-B, FCR-B i FER-B na odpowiednich pozycjach karuzeli TCR.
5. Zamknąć drzwi odczynników TCR.

Uwaga: System Panther Fusion doda odczynnik IC-B do odczynnika FCR-B. Odczynnik powstały po dodaniu odczynnika IC-B do odczynnika FCR-B nazywany jest wFCR-B (roboczy FCR-B). Jeżeli odczynniki wFCR-B i FER-B zostaną usunięte z systemu, należy zamknąć je za pomocą nowych zatyczek i natychmiast umieścić je w miejscu o odpowiednich warunkach do przechowywania.

D. Obchodzenie się z próbkami

Uwaga: Przed załadowaniem próbek do systemu Panther Fusion należy przygotować je zgodnie z instrukcjami zawartymi w sekcji *Pobieranie, przetwarzanie i przechowywanie próbek*.

Przed włożeniem do statywu sprawdzić probówki. Jeśli probówka na próbki zawiera pęcherzyki powietrza lub ma mniejszą objętość niż zazwyczaj, należy delikatnie postukać w dno probówki, aby zawartość znalazła się na dnie.

E. Postępowanie z próbkami osocza

1. Należy upewnić się, że przetworzone próbki w probówkach pierwotnych lub nierozcieńczone próbki w probówkach dodatkowych były odpowiednio przechowywane, zgodnie z instrukcjami zawartymi w sekcji *Pobieranie, przetwarzanie i przechowywanie próbek*.
2. Upewnić się, że zamrożone próbki są dokładnie rozmrożone. Rozmrożone próbki należy wirować przez 3 do 5 sekund w celu dokładnego wymieszania.
3. Przed rozpoczęciem obróbki próbki powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C. Dodatkowe informacje dotyczące systemu znajdują się w *Próbki w aparacie systemu Panther Fusion*.
4. Upewnić się, że każda probówka pierwotna lub wtórna zawiera odpowiednią próbkę. Minimalna objętość próbki dla 1 replikatu – patrz Tabela 1.
5. Tuż przed umieszczeniem próbek w statywie na próbki odwirować każdą próbkę przy 1000-3000 g przez 10 minut. Na tym etapie nie należy zdejmować zakrętek.

Zobacz etap G.2 poniżej, aby uzyskać informacje dotyczące ładowania statywu i zdjęcia zakrętek.

F. Postępowanie z próbkami moczu

1. Należy upewnić się, że próbki w probówkach pierwotnych lub przetworzone próbki w probówkach transportowych Aptima do próbek moczu są odpowiednio przechowywane, zgodnie z *Pobieranie, przetwarzanie i przechowywanie próbek*.
2. Należy upewnić się, próbki w probówkach transportowych Aptima do próbek moczu są całkowicie rozmarznęte.
3. Przed rozpoczęciem testowania w systemie Panther Fusion próbki powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C. Dodatkowe informacje dotyczące systemu znajdują się w *Próbki w aparacie systemu Panther Fusion*.

Uwaga: Należy unikać ładowania do systemu Panther Fusion próbek zawierających osad.

4. Delikatnie odwrócić probówki transportowe Aptima do próbek moczu co najmniej 3 razy lub delikatnie wymieszać na kołysce, aż mocz stanie się jednorodny.

Uwaga: Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas odwracania lub mieszania probówek. Piana może negatywnie wpływać na wykrywanie poziomu przez system Panther Fusion.

Zobacz etap G.2 poniżej, aby uzyskać informacje dotyczące ładowania statywu i zdjęcia zakrętek.

G. Przygotowanie systemu

1. Instrukcje dotyczące ustawiania systemu Panther Fusion, w tym ładowania próbek, odczynników, wkładów testowych i płynów uniwersalnych, zawierają *Instrukcja obsługi systemu Panther/Panther Fusion* i *Uwagi dotyczące procedur*.
2. Załadowanie próbek do statywów na próbki. Wykonać następujące czynności dla każdej probówki na próbki (próbka oraz, jeśli to konieczne, kalibratory i kontrole):
 - a. Poluzować jedną zakrętkę probówki na próbki, ale jeszcze jej nie zdejmować.

Uwaga: Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć kontaminacji poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu. Delikatnie poluzować zakrętki na próbkach.
 - b. Załadować probówki na próbki do statywów na próbki.
 - c. Powtórzyć etapy 2.a i 2.b dla każdej pozostałej próbki.
 - d. Po załadowaniu próbek do statywu na próbki, zdjąć i wyrzucić każdą zakrętkę probówki na próbki z jednego statywu na próbki. Aby uniknąć kontaminacji, nie przenosić zakrętki nad innymi statywami na próbki lub probówkami na próbki.
 - e. W razie potrzeby użyć nowej, jednorazowej pipety do usuwania pęcherzyków powietrza lub piany. Pęcherzyki powietrza w probówce wpływają negatywnie na wykrywanie poziomu przez system Panther Fusion.
 - f. Po zdjęciu ostatniej zakrętki, załadować statyw z próbkami do wnęki na próbki.

Uwaga: Jeśli jednocześnie przeprowadzane są inne testy i typy próbek, należy zabezpieczyć mocowniki próbek przed załadowaniem statywu na próbki do wnęki na próbki.
 - g. Potworzyć etapy 2.a do 2.f dla kolejnego statywu na próbki.

H. Przygotowanie systemu: Stosowanie współczynnika konwersji próbki moczu

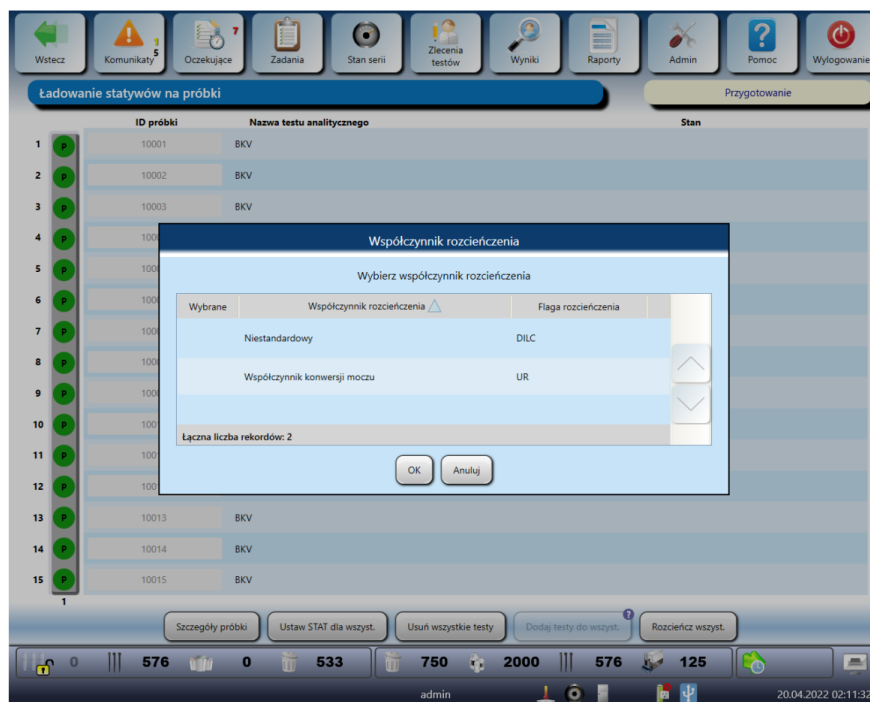
1. Skonfigurować system zgodnie z wytycznymi w *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion)*.
2. Załadować statyw na próbki.
3. Zastosować współczynnik konwersji moczu dla zleceń testów próbek moczu.

Uwaga: Współczynnik konwersji moczu można zastosować do całego statywu lub jednego zlecenia testu.

Aby zastosować współczynnik konwersji moczu dla całego statywu próbek moczu:

- a. Na ekranie *Sample Rack Bay* (Wnęka statywów na próbki) dwukrotnie kliknąć żądany załadowany statyw. Pojawi się ekran *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywu na próbki) dla wybranego statywu.
- b. Wybrać **Dilute All** (Rozcieńcz wszystko).

Pojawia się okno *Dilution Factor* (Współczynnik rozcieńczenia) (Rysunek 1).



Rysunek 1. Okno współczynnik rozcieńczenia na ekranie ładowania statywów na próbki (przykład)

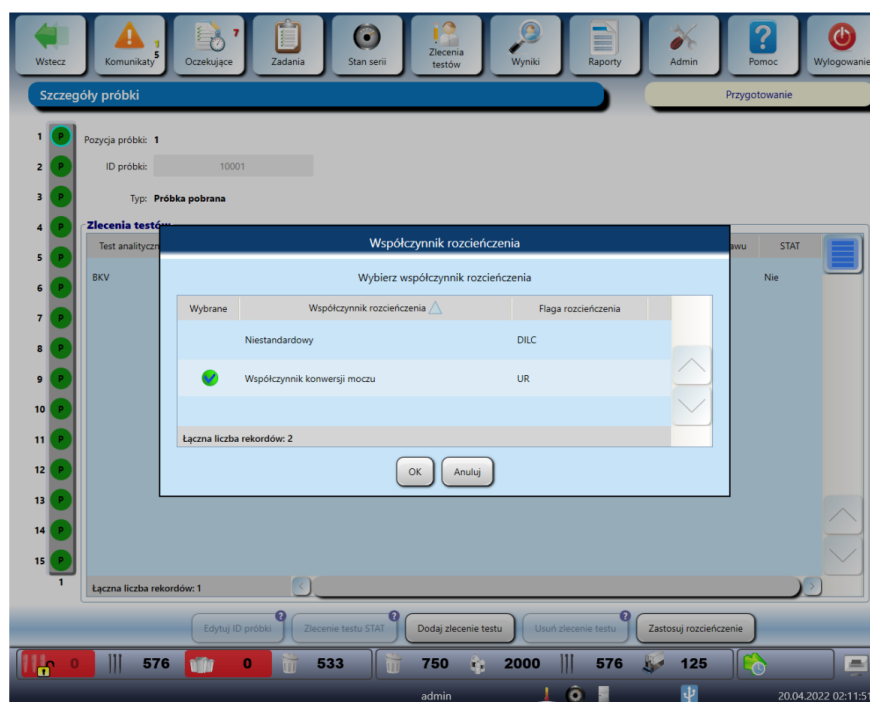
- c. Wybrać **Urine Conversion Factor** (Współczynnik konwersji moczu).
- d. Wybrać **OK**.

Pojawia się okno *Set Dilution Factor for Rack* (Ustaw współczynnik rozcieńczania dla statywu).

- e. Nacisnąć przycisk **Yes** (Tak), aby zastosować flagę współczynnika konwersji moczu dla całego statywu próbek moczu.

Aby zastosować współczynnik konwersji moczu do pojedynczego zlecenia testu (Rysunek 2):

- Na ekranie *Sample Rack Bay* (Wnęka statywów na próbki) dwukrotnie kliknąć załadowany statyw zawierający próbki poddawane badaniu.
Pojawi się ekran *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywu na próbki) dla wybranego statywu na próbki.
- Na ekranie *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywu na próbki) dwukrotnie kliknąć żadaną próbkę.
Pojawi się okno *Sample Details* (Szczegóły próbki) z bieżącymi zleceniami testu dla wybranej próbki.
- W obrębie panelu *Test Orders* (Zlecenia testów) wybrać odpowiednie zlecenie testu.
- Wybrać **Apply Dilution** (Zastosuj rozcieńczenie).



Rysunek 2. Okno współczynnika rozcieńczenia na ekranie szczegółów próbki (przykład)

- Wybrać **Urine Conversion Factor** (Współczynnik konwersji moczu).
 - Nacisnąć przycisk **OK**, aby zastosować flagę współczynnika konwersji moczu dla wszystkich wybranych zleceń testu.
4. W razie potrzeby współczynnik konwersji moczu można usunąć ze zleceń testu przed rozpoczęciem przetwarzania.

Aby usunąć współczynnik konwersji moczu dla całego statywu:

- Na ekranie *Sample Rack Bay* (Wnęka statywów na próbki) dwukrotnie kliknąć żądany załadowany statyw.

Pojawi się ekran *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywu na próbki) dla wybranego statywu.

- b. Wybrać **Dilute All** (Rozcieńcz wszystko).
- c. W oknie *Dilution Factor* (Współczynnik rozcieńczenia) usunąć wybór **Urine Conversion Factor** (Współczynnik konwersji moczu).
- d. Wybrać **OK**.
Pojawia się okno *Set Dilution Factor for Rack* (Ustaw współczynnik rozcieńczania dla statywu).
- e. Wybrać **Yes** (Tak), aby usunąć współczynnik konwersji moczu dla całego statywu.
Aby usunąć zlecenia testu współczynnika konwersji moczu:
 - a. Na ekranie *Sample Rack Bay* (Wnęka statywów na próbki) dwukrotnie kliknąć załadowany statyw zawierający próbki poddawane badaniu.
Pojawi się ekran *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywu na próbki) dla wybranego statywu na próbki.
 - b. Na ekranie *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywu na próbki) dwukrotnie kliknąć żądaną próbkę.
Pojawi się okno *Sample Details* (Szczegóły próbki) z bieżącymi zleceniami testu dla wybranej próbki.
 - c. W obrębie panelu *Test Orders* (Zlecenia testów) wybrać odpowiednie zlecenie testu.
 - d. Wybrać **Apply Dilution** (Zastosuj rozcieńczenie).
 - e. W oknie *Dilution Factor* (Współczynnik rozcieńczenia) usunąć wybór **Urine Conversion Factor** (Współczynnik konwersji moczu).
 - f. Wybrać **OK**, aby usunąć współczynnik konwersji moczu ze zlecenia testu.

Uwagi dotyczące procedur

A. Kalibratory i kontrole

1. Kalibratory qBKV (5 probówek), probówki o niskiej kontroli dodatniej EBV–BKV (LPC), o wysokiej kontroli dodatniej EBV–BKV (HPC) i probówki z kontrolą ujemną przeszczepu (NC III) można umieścić na dowolnej pozycji w statywie na próbki i w dowolnym torze wnęki na próbki w systemie Panther Fusion. Pipetowanie kalibratora i kontroli rozpocznie się po załadowaniu próbek BKV do systemu. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpocznie się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
 - a. Kalibratory i kontrole są w trakcie przetwarzania przez system.
 - b. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kalibratorów i kontroli.
2. Po odpipetowaniu probówek kalibracyjnych oraz kontrolnych i przygotowaniu ich do testu Panther Fusion BKV Quant, można przystąpić do badania próbek. Wyniki kalibracji ważne są przez 60 dni, a wyniki kontroli do 30 dni (częstotliwość konfigurowana przez administratora), **chyba że**:
 - a. Wyniki kalibratora są nieważne.
 - b. Wyniki kontroli są nieważne.
 - c. Operator żąda uruchomienia nowych kontroli/kalibratorów w oprogramowaniu systemu Panther Fusion.

3. Kalibracja jest wymagana dla każdej nowej partii wkładu testowego ładowanej do systemu Panther Fusion przed użyciem go do przetwarzania próbek.
4. Każdą probówkę z kalibratorem i każdą probówkę z kontrolą można przetestować tylko raz.

Kontrola jakości

Kalibracja testu

Aby wygenerować ważne wyniki, należy wykonać kalibrację testu. Pięć kalibratorów dodatkowych jest testowanych trzykrotnie za każdym razem, gdy do systemu Panther Fusion ładowana jest nowa seria wkładów testowych. Raz ustalona kalibracja testu jest ważna przez maksymalnie 60 dni. Oprogramowanie systemu Panther Fusion alarmuje operatora, gdy wymagana jest kalibracja.

Podczas przetwarzania oprogramowanie Panther Fusion automatycznie sprawdza ważność krzywej kalibracyjnej. Jeśli kalibracja nie przejdzie pomyślnie kontroli ważności, system Panther Fusion automatycznie unieważnia próbki, których to dotyczy – w takiej sytuacji konieczne będzie przetestowanie nowego zestawu kalibratorów testów przed zapipetowaniem jakichkolwiek dodatkowych próbek.

Domyślnie test będzie przetwarzał próbki jako nierozcieńczone osocze. Aby przetworzyć próbki moczu, w interfejsie użytkownika aparatu należy wybrać rozcieńczenie współczynnika konwersji moczu.

Kontrole ujemne i dodatnie

Aby wygenerować ważne wyniki, należy przetestować zestaw kontroli testu. Jeden replikat NC III (kontrola ujemna przeszczepu), LPC (niska kontrola dodatnia) i HPC (wysoka kontrola dodatnia) musi zostać zbadana za każdym razem, gdy do systemu Panther Fusion ładowana jest nowa seria wkładów z testem lub gdy upłynął termin ważności bieżącego zestawu ważnych kontroli dla aktywnej serii wkładów.

System Panther Fusion jest skonfigurowany w taki sposób, aby kontrole testów były przeprowadzane w odstępach czasu określonych przez administratora, wynoszących maksymalnie 30 dni. Oprogramowanie systemu Panther Fusion ostrzega operatora, gdy wymagane są kontrole testów, i nie rozpoczyna nowych testów, dopóki kontrole testów nie zostaną załadowane i nie rozpoczną przetwarzania.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli testów są automatycznie weryfikowane przez system Panther Fusion. Aby wygenerować prawidłowe wyniki, kontrole testów muszą przejść serię kontroli ważności wykonywanych przez system Panther Fusion.

Jeśli kontrole testów przejdą wszystkie kontrole ważności, są uznawane za ważne przez określony przez administratora przedział czasu. Kiedy upłynie określony czas, system Panther Fusion wyłączy kontrole testów – wówczas konieczne będzie przetestowanie nowego zestawu kontroli testów przed rozpoczęciem pipetowania jakichkolwiek dodatkowych próbek.

Jeśli którakolwiek z kontroli testów nie przejdzie pomyślnie kontroli ważności, system Panther Fusion automatycznie unieważnia próbki, których to dotyczy – w takiej sytuacji konieczne będzie przetestowanie nowego zestawu kontroli testów przed rozpoczęciem pipetowania jakichkolwiek dodatkowych próbek.

Kontrola wewnętrzna

W trakcie procesu ekstrakcji do każdej próbki dodawana jest kontrola wewnętrzna. Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli wewnętrznej są automatycznie weryfikowane przez oprogramowanie systemu Panther Fusion. Wykrywanie kontroli wewnętrznej nie jest wymagane dla próbek, które są dodatnie dla BKV. Kontrola wewnętrzna musi być wykryta we wszystkich próbkach, które są ujemne dla cząsteczek szukanych BKV; próbki, które nie spełniają tych kryterium, zostaną zgłoszone jako Nieważne. Każda próbka z wynikiem Nieważnym musi zostać ponownie przebadana.

Oprogramowanie aparatu systemu Panther Fusion umożliwia przeprowadzenie dokładnej weryfikacji procesów, gdy procedury są wykonywane zgodnie z instrukcjami zawartymi w tej ulotce załączonej do opakowania oraz w *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion)*.

Interpretacja wyników

System Panther Fusion automatycznie oznacza stężenie DNA wirusa BKV dla próbek i kontroli poprzez porównanie wyników z krzywą kalibracyjną. Stężenia DNA wirusa BKV podawane są w j.m./mL i $\log_{10}$ j.m./mL. Interpretacja wyników przedstawiona jest w Tabeli 2 i Tabeli 3.

Tabela 2: Interpretacja wyniku osocza

Zgłoszone wyniki testu BKV Quant		
j.m./ml	Wartość $\log_{10}$	Interpretacja
Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto DNA wirusa BKV.
wykryto <79	<1,90	Wykryto DNA wirusa BKV, ale poziom jest poniżej dolnej granicy oznaczania ilościowego (LLoQ).
79 do 1,0E09	1,90 do 9,00	Stężenie DNA wirusa BKV mieści się w zakresie liniowym od LLoQ do ULoQ j.m./ml.
>1,0E09	>9,00	Stężenie DNA wirusa BKV jest powyżej górnej granicy oznaczania ilościowego (ULoQ).
Nieważny ^a	Nieważny ^a	Wystąpił błąd w czasie tworzenia wyniku. Trzeba ponownie przetestować próbki.

^a Nieważne wyniki są wyświetlane niebieską czcionką.

Tabela 3: Interpretacja wyniku moczu

Zgłoszone wyniki testu BKV Quant		
j.m./ml	Wartość $\log_{10}$	Interpretacja
Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto DNA wirusa BKV.
wykryto <162	<2,21	Wykryto DNA wirusa BKV, ale poziom jest poniżej dolnej granicy oznaczania ilościowego (LLoQ).
162 do 2,0E09	2,21 do 9,30	Stężenie DNA wirusa BKV mieści się w zakresie liniowym od LLoQ do ULoQ j.m./ml.

Tabela 3: Interpretacja wyniku moczu

>2,0E09	>9,30	Stężenie DNA wirusa BKV jest powyżej górnej granicy oznaczania ilościowego (ULoQ).
Nieważny ^a	Nieważny ^a	Wystąpił błąd w czasie tworzenia wyniku. Trzeba ponownie przetestować próbki.

^a Nieważne wyniki są wyświetlane niebieską czcionką.

Ograniczenia

- A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie tej procedury testowej. Nieprzestrzeganie tych instrukcji może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- B. Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i obróbki.
- C. Należy unikać skażenia, zachowując dobre praktyki laboratoryjne i przestrzegając procedur określonych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania.
- D. Choć rzadko, mutacje w wysoce konserwatywnych regionach genomu wirusowego objętych starterami i/lub sondami w teście Panther Fusion BKV Quant mogą powodować zaniżenie ilości lub niewykrycie wirusa.
- E. Wyniki ujemne nie wykluczają zakażeń BKV i nie powinny być stosowane jako jedyna podstawa do podejmowania decyzji dotyczących postępowania z pacjentem.
- F. Wynik dodatni wskazuje na wykrycie kwasu nukleinowego odpowiedniego wirusa. Kwas nukleinowy może pozostać nawet po wyeliminowaniu wirusa.

Skuteczność

Granica wykrywalności przy zastosowaniu 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO

Granica wykrywalności (LoD) testu jest definiowana jako stężenie DNA wirusa BKV, które jest wykrywane z 95% lub większym prawdopodobieństwem zgodnie z CLSI EP17-A2.⁷

Granica wykrywalności według próbek wzorcowych WHO w osoczu

LoD oznaczono poprzez badanie paneli 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO (NIBSC 14/212, genotyp A) dla wirusa BKV rozcieńczonego w BKV-ujemnym osoczu ludzkim. Zbadano dwadzieścia (20) replikatów każdego rozcieńczenia z każdą z trzech partii odczynników, co daje w sumie 60 replikatów na rozcieńczenie. Przeprowadzono analizę probitową w celu wygenerowania przewidywanych granic wykrywalności. Wartości LoD przedstawione w Tabeli 4 to wyniki z partii odczynnika o najwyższej przewidywanej granicy wykrywalności. LoD dla testu Panther Fusion BKV Quant wykorzystującego 1. międzynarodową próbkę wzorcową WHO wynosi 43,1 j.m./ml dla osocza.

Tabela 4: Granica wykrywalności dla osocza przy zastosowaniu 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla HBV

Przewidywana granica wykrywalności	Stężenie (j.m./ml)
10%	1,6
20%	2,1
30%	2,7
40%	3,5
50%	4,5
60%	6,1
70%	8,6
80%	13,3
90%	25,3
95%	43,1

Granica wykrywalności według próbki wzorcowej WHO w moczu

LoD oznaczono poprzez badanie paneli 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla wirusa BKV rozcieńczonego w BKV-ujemnym moczu ludzkim. Zbadano dwadzieścia (20) replikatów każdego rozcieńczenia z każdą z trzech partii odczynników, co daje w sumie 60 replikatów na rozcieńczenie. Przeprowadzono analizę probitową w celu wygenerowania przewidywanych granic wykrywalności. Wartości LoD przedstawione w Tabeli 5 to wyniki z partii odczynnika o najwyższej przewidywanej granicy wykrywalności. LoD dla testu Panther Fusion BKV Quant wykorzystującego 1. międzynarodową próbkę wzorcową WHO wynosi 143,6 j.m./ml dla moczu.

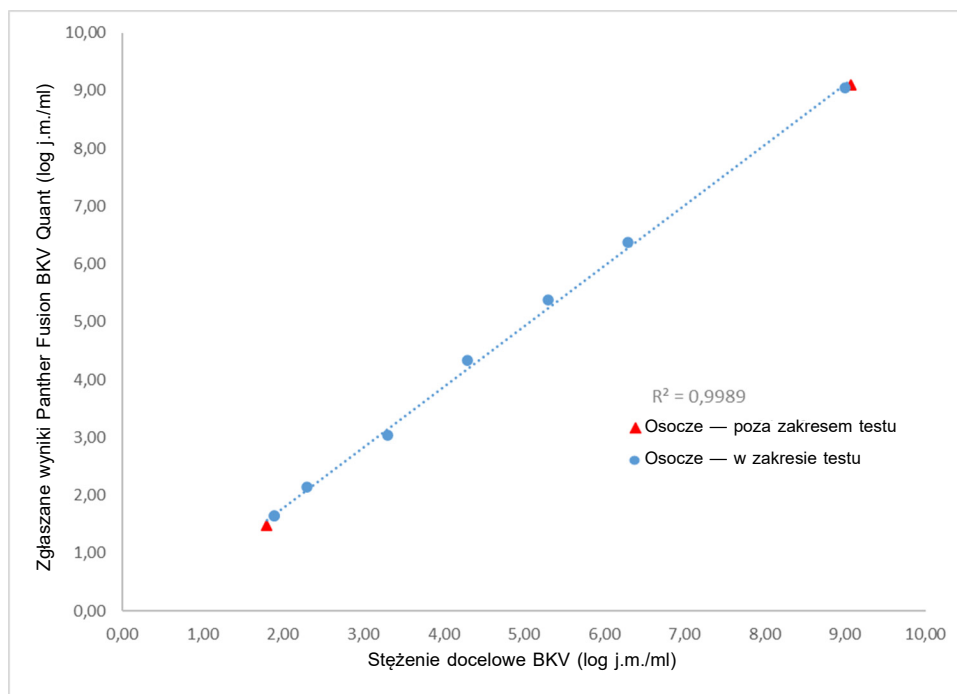
Tabela 5: Granica wykrywalności dla moczu przy zastosowaniu 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla HBV

Przewidywana granica wykrywalności	Stężenie (j.m./ml)
10%	3,7
20%	6,0
30%	9,1
40%	13,0
50%	18,5
60%	26,2
70%	38,1
80%	58,1
90%	99,5
95%	143,6

Zakres liniowy

Zakres liniowy w osoczu

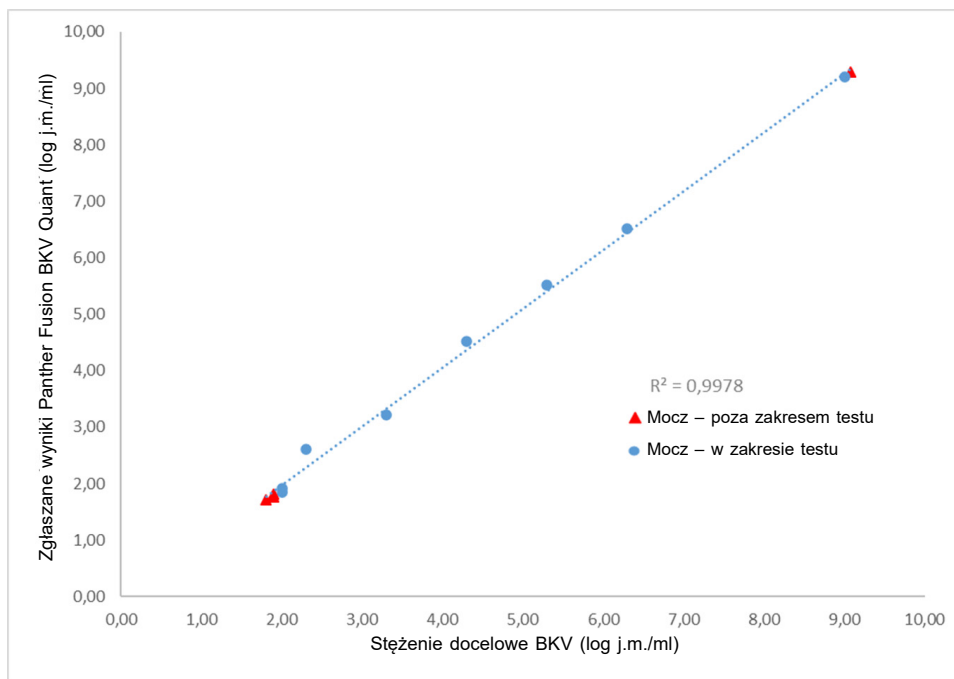
Zakres liniowy został ustalony poprzez badanie paneli DNA wirusa BKV rozcieńczonego w BKV-ujemnym ludzkim osoczu zgodnie z CLSI EP06-A.*Panele miały stężenie od 1,80 log j.m./ml do 9,08 log j.m./ml. Test Panther Fusion BKV Quant wykazał liniowość w całym badanym zakresie. Górna granica oznaczenia ilościowego (ULoQ) testu wynosi 9,00 log j.m./ml, jak pokazano na Rysunek 3.



Rysunek 3. Liniowość w osoczu

Zakres liniowy w moczu

Zakres liniowy został ustalony poprzez badanie paneli DNA wirusa BKV rozcieńczonego w BKV-ujemnym ludzkim moczu zgodnie z CLSI EP06-A.⁸ Panele miały stężenie od 2,11 log j.m./ml do 9,38 log j.m./ml. Test Panther Fusion BKV Quant wykazał liniowość w całym badanym zakresie. Górna granica oznaczenia ilościowego (ULoQ) testu wynosi 9,30 log j.m./ml, jak pokazano na Rysunek 4.



Rysunek 4. Liniowość w moczu

Dolna granica oznaczenia ilościowego przy zastosowaniu 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO

Dolna granica oznaczenia ilościowego (LLoQ) jest definiowana jako najniższe stężenie, przy którym RNA wirusa BKV jest wiarygodnie oznaczane ilościowo, zgodnie z CLSI EP17-A2.⁷

Całkowity błąd oszacowano za pomocą modelu Westgarda: Całkowity błąd (TE) = |obciążenie| + 2 SD. Aby zapewnić precyzję i dokładność pomiarów, błąd całkowity testu Panther Fusion BKV Quant ustalono na 1,2 log j.m./ml, z odchyleniem od prawdy i odchyleniem standardowym, które musi wynosić odpowiednio $\leq 0,5$ log j.m./ml i $\leq 0,35$ log j.m./ml.

Dolna granica oznaczenia ilościowego przy zastosowaniu międzynarodowej próbki wzorcowej WHO

LLoQ oznaczono poprzez badanie paneli 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO (NIBSC 14/212, genotyp A) dla wirusa BKV rozcieńczonego w BKV-ujemnym osoczu ludzkim. Zbadano dwadzieścia (20) replikatów każdego rozcieńczenia z każdą z trzech partii odczynników, co daje w sumie 60 replikatów na rozcieńczenie. Wyniki LLoQ dla trzech serii odczynników przedstawia Tabela 6. Wartość LLoQ wygenerowana zgodnie z 1. międzynarodową próbką wzorcową WHO dla BKV w osoczu wynosi 79 j.m./ml (1,90 log j.m./ml).

Tabela 6: Oznaczenie LLoQ przy zastosowaniu 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla BKV rozcieńczonego w osoczu

Partia odczynników	N	N wykrytych	Stężenie docelowe (log j.m./ml)	Test BKV Quant (log j.m./ml)	SD (log j.m./ml)	Obciążenie (log j.m./ml)	Obliczony TE (log j.m./ml)
1	20	20	1,90	1,95	0,19	0,2	0,5
	20	20	2,06	2,09	0,14	0,1	0,4
	20	20	2,18	2,26	0,12	0,1	0,4
	20	20	2,26	2,35	0,15	0,2	0,5
2	20	20	1,90	1,96	0,14	0,1	0,4
	20	20	2,06	2,13	0,16	0,2	0,5
	20	20	2,18	2,24	0,16	0,1	0,4
	20	20	2,26	2,35	0,14	0,1	0,4
3	20	20	1,90	1,98	0,20	0,2	0,6
	20	20	2,06	2,06	0,15	0,1	0,4
	20	20	2,18	2,27	0,09	0,1	0,3
	20	20	2,26	2,35	0,11	0,1	0,4

SD = odchylenie standardowe $\leq 0,35$ (log j.m./ml).

|Obciążenie|=odchylenie od prawdy $\leq 0,5$ (log j.m./ml).

Rozcieńczenie odpowiadające stężeniu LLoQ i testowane dla każdej partii odczynnika jest zaznaczone na szaro.

Dolna granica oznaczenia ilościowego przy zastosowaniu międzynarodowej próbki wzorcowej WHO w moczu

LLoQ oznaczono poprzez badanie paneli 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO (NIBSC 14/212, genotyp A) dla wirusa BKV rozcieńczonego w BKV-ujemnym moczu ludzkim. Zbadano dwadzieścia (20) replikatów każdego rozcieńczenia z każdą z trzech partii odczynników, co daje w sumie 60 replikatów na rozcieńczenie. Wyniki LLoQ dla trzech serii odczynników przedstawia Tabela 7. Wartość LLoQ wygenerowana zgodnie z 1. międzynarodową próbką wzorcową WHO dla BKV w moczu wynosi 162 j.m./ml (2,21 log j.m./ml).

Tabela 7: Oznaczenie LLoQ przy zastosowaniu 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla BKV rozcieńczonego w moczu

Partia odczynników	N	N wykrytych	Stężenie docelowe (log j.m./ml)	Test BKV Quant (log j.m./ml)	SD (log j.m./ml)	Obciążenie (log j.m./ml)	Obliczony TE (log j.m./ml)
1	20	20	2,21	2,09	0,24	0,2	0,7
	20	20	2,26	2,15	0,20	0,2	0,5
	20	20	2,30	2,15	0,23	0,2	0,7
	20	20	2,38	2,27	0,20	0,2	0,6

Tabela 7: Oznaczenie LLoQ przy zastosowaniu 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla BKV rozcieńczonego w moczu (ciąg dalszy)

Partia odczynników	N	N wykrytych	Stężenie docelowe (log j.m./ml)	Test BKV Quant (log j.m./ml)	SD (log j.m./ml)	Obciążenie (log j.m./ml)	Obliczony TE (log j.m./ml)
2	20	20	2,21	1,98	0,22	0,2	0,7
	20	20	2,26	2,14	0,27	0,2	0,7
	20	20	2,30	2,23	0,20	0,2	0,6
	20	20	2,38	2,27	0,25	0,2	0,7
3	20	20	2,21	1,97	0,24	0,3	0,7
	20	20	2,26	2,03	0,22	0,3	0,7
	20	20	2,30	2,08	0,18	0,2	0,6
	20	20	2,38	2,13	0,23	0,3	0,7

SD = odchylenie standardowe $\leq 0,35$ (log j.m./ml).

|Obciążenie|=odchylenie od prawdy $\leq 0,5$ (log j.m./ml).

Rozcieńczenie odpowiadające stężeniu LLoQ i testowane dla każdej partii odczynnika jest zaznaczone na szaro.

Potwierdzenie dolnej granicy oznaczenia ilościowego dla różnych genotypów BKV

Dolna granica oznaczenia ilościowego dla różnych genotypów w osoczu

Wartość LLoQ ustalona przy użyciu próbki wzorcowej WHO została oceniona poprzez badanie genotypów BKV I (1b-2) i IV z dodatkiem 3-krotnie większym niż LLoQ w ludzkim osoczu BKV-ujemnym. Trzy replikaty każdego z elementów panelu przebadano przy użyciu jednej partii odczynników. Wyniki przedstawione są w Tabeli 8.

Tabela 8: Potwierdzenie LLoQ w osoczu w zależności od genotypu w osoczu

Izolat (genotyp)	N	N wykrytych	Stężenie docelowe (log j.m./ml)	Test BKV Quant (log j.m./ml)	SD (log j.m./ml)	Obciążenie (log j.m./ml)
Genotyp I (1b-2)	3	3	2,37	2,59	0,08	0,2
Genotyp IV	3	3	2,37	2,25	0,05	0,1

SD = odchylenie standardowe.

Dolna granica oznaczenia ilościowego dla różnych genotypów w moczu

Wartość LLoQ ustalona przy użyciu próbki wzorcowej WHO została oceniona poprzez badanie rozcieńczeń genotypów BKV I (1b-2) i IV w ludzkim moczu BKV-ujemnym. Trzy replikaty każdego z elementów panelu przebadano przy użyciu jednej partii odczynników. Wyniki przedstawione są w Tabeli 9.

Tabela 9: Potwierdzenie LLoQ w osoczu w zależności od genotypu w moczu

Izolat (genotyp)	N	N wykrytych	Stężenie docelowe (log j.m./ml)	Test BKV Quant (log j.m./ml)	SD (log j.m./ml)	Obciążenie (log j.m./ml)
Genotyp I (1b-2)	3	3	2,69	2,43	0,27	0,0
Genotyp IV	3	3	2,69	2,57	0,16	0,2

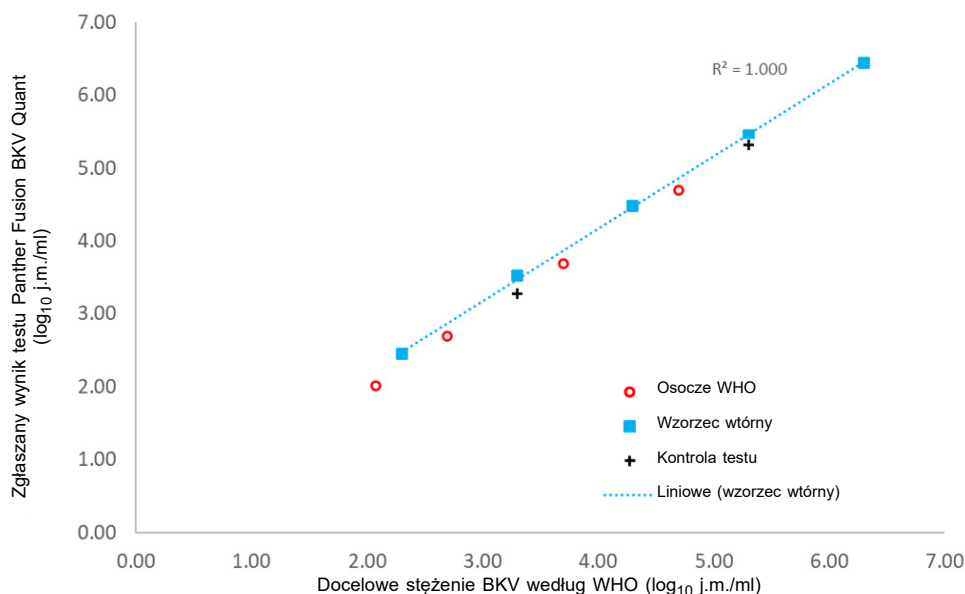
SD = odchylenie standardowe.

Identyfikowalność według 1. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO

W trakcie opracowywania i wytwarzania produktu stosowano serię wzorców wtórnych o znanych stężeniach, aby zapewnić identyfikowalność z próbką wzorcową WHO. 1. próbkę wzorcową WHO BKV rozcieńczono i przetestowano wraz ze wzorcami wtórnymi, jak również kontrolami testu i kalibratorami zastosowanymi w teście Panther Fusion BKV Quant w celu oceny identyfikowalności zgodnie z CLSI EP32-R.⁹ Wzorce wtórne miały stężenie od 2,30 do 6,30 log₁₀ j.m./ml.

Identyfikowalność według próbki wzorcowej WHO w osoczu

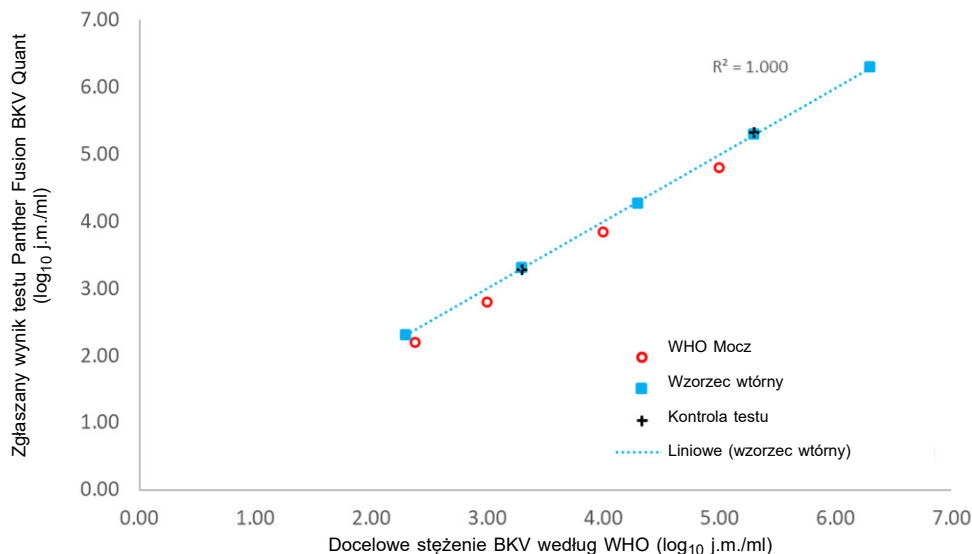
Stężenia zbadane dla pierwszej próbki wzorcowej WHO dla BKV mieściły się w zakresie od 2,07 do 4,70 log j.m./ml. Wyniki dla paneli osocza WHO, wtórnych próbek wzorcowych, kontroli testu i kalibratorów testu odzyskano zgodnie z oczekiwaniami w całym zakresie liniowym testu, jak widać na Rysunek 5.



Rysunek 5. Identyfikowalność pomiędzy stężeniami docelowymi BKV pierwszej próbki wzorcowej WHO a stężeniami zgłaszanymi w teście Panther Fusion BKV Quant (próbka wzorcową WHO rozcieńczoną w osoczu)

Identyfikowalność według próbki wzorcowej WHO w moczu

Stężenia zbadane dla pierwszej próbki wzorcowej WHO dla BKV w moczu mieściły się w zakresie od 2,38 do 5,00 $\log_{10}$ j.m./ml. Wyniki dla paneli moczu WHO, wtórnych próbek wzorcowych, kontroli testu i kalibratorów testu odzyskano zgodnie z oczekiwaniami w całym zakresie liniowym testu, jak widać na Rysunek 6.



Rysunek 6. Identyfikowalność pomiędzy stężeniami docelowymi BKV pierwszej próbki wzorcowej WHO a stężeniami zgłaszanymi w teście Panther Fusion BKV Quant (próbka wzorcowa WHO rozcieńczona w moczu)

Precyzja w obrębie laboratorium

Mocz

Aby ocenić precyzję w obrębie laboratorium, przygotowano panel ujemny i panel 3-elementowy poprzez rozcieńczenie DNA BKV w moczu BKV-ujemnym. Panele dodatnie i ujemne zostały przetestowane przez 2 operatorów przy użyciu 3 partii odczynników w 3 systemach Panther Fusion w ciągu 6 nie następujących po sobie dni testowych. Każdy operator wykonywał 2 serie dziennie, a każdy element panelu był testowany trzykrotnie w każdej z serii. Badanie opracowano i poddano analizie zgodnie z zaleceniami CLSI EP-05-A3.¹⁰

Tabela 10 przedstawia odtwarzalność wyników testów (w $\log$ j.m./ml) dla panelu dodatniego pomiędzy urządzeniami, pomiędzy operatorami, pomiędzy partiami wkładów, pomiędzy seriami, w obrębie serii i ogólnie. Całkowita zmienność wynikała głównie ze zmienności w ramach serii (tj. błędu losowego). Wszystkie replikaty panelu ujemnego dały wynik ujemny.

Tabela 10: Odtwarzalność testu Panther Fusion BKV Quant w moczu

N	Średnie stężenie (log j.m./ml)	Pomiędzy partiami	Pomiędzy urządzeniami	Pomiędzy operatorami	Pomiędzy dniami	Pomiędzy seriami	W obrębie seriami	Ogółem
		SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
54	2,59	0,06	0,08	0,02	0,08	0,14	0,13	0,16
54	3,55	0,08	0,04	0,01	0,02	0,05	0,25	0,10
54	4,58	0,07	0,01	0,01	0,01	0,06	0,28	0,07

SD = odchylenie standardowe.

Substancje powodujące potencjalne interferencje

Czułość testu Panther Fusion BKV Quant na zakłócenia ze strony podwyższonych poziomów substancji endogennych, antykoagulantów i leków powszechnie przepisywanych pacjentom po przeszczepach oceniano w matrycach BKV-ujemnych w obecności lub przy braku 2,37 log j.m./ml i 2,69 log j.m./ml BKV odpowiednio w osoczu i moczu. Stężenia testowe dla każdej substancji zakłócającej wybrano w oparciu o dostępne odniesienia literaturowe i wytyczne CLSI EP07¹¹ i EP37.¹²

Nie zaobserwowano żadnych zakłóceń w dokładności oznaczania ilościowego w próbkach osocza lub moczu w obecności substancji potencjalnie powodujących interferencje wymienionych w Tabeli 11 i Tabeli 12.

Tabela 11: Substancje endogenne osocza

Substancja powodująca potencjalne interferencje	Liczba replikatów	Badane stężenie
Albumina	3	375 mg/dl
Bilirubina sprzężona	3	40 mg/dl
Hemoglobina	3	1000 mg/dl
DNA genomu człowieka	3	0,2 mg/dl
Trójglicerydy	3	3,45 mg/dl
Bilirubina niesprzężona	3	0,40 mg/dl

Tabela 12: Substancje endogenne moczu

Substancja powodująca potencjalne interferencje	Liczba replikatów	Badane stężenie
Albumina	3	375 mg/dl
Bilirubina sprzężona	3	40 mg/dl
Estradiol	3	8E-05 mg/dl
Glukoza	3	220 mg/dl
Mucyny	3	6 mg/dl
Komórki jednojądrzaste krwi obwodowej	3	1E+06 komórek/ml

Tabela 12: Substancje endogenne moczu (ciąg dalszy)

Substancja powodująca potencjalne interferencje	Liczba replikatów	Badane stężenie
pH, kwaśne (HCl)	3	2 mM
pH, zasadowe (NaOH)	3	0,2 mM
Sperma	3	5%
Krew pełna	3	2%

Nie zaobserwowano żadnych zakłóceń w dokładności oznaczania ilościowego w obecności egzogennych substancji potencjalnie powodujących interferencje wymienionych w Tabeli 13 i Tabeli 14.

Tabela 13: Substancje egzogenne dla osocza

Substancja powodująca potencjalne interferencje	Liczba replikatów	Badane stężenie
Acyklowir	3	6,6 mg/dl
Azatiopryna	3	0,258 mg/dl
Cefotetan	3	71,1 mg/dl
Cydofowir	3	12,4 mg/dl
Klawulanian potasu	3	1,47 mg/ml
Cyklosporyna	3	0,180 mg/dl
Ewerolimus	3	0,0183 mg/dl
Flukonazol	3	2,55 mg/dl
Foscarnet	3	108 mg/dl
Gancyklowir	3	3,96 mg/dl
Letermowir	3	3,9 mg/dl
Micafungin	3	6,6 mg/dl
Mykofenolan mofetylu	3	18,1 mg/dl
Związek pochodny B mykofenolanu mofetylu	3	18,1 mg/dl
Naproxen	3	36 mg/dl
Piperacylina	3	110 mg/dl
Prednizon	3	0,099 µg/dl
Sirolimus	3	0,0213 mg/dl
Sulfametoksazol	3	35,7 mg/dl
Takrolimus	3	0,0144 mg/dl
Tazobaktam sodu	3	10,2 mg/dl
Tikarcylina disodowa	3	151 mg/dl
Trimetoprim	3	4,2 mg/dl

Tabela 13: Substancje egzogenne dla osocza (ciąg dalszy)

Substancja powodująca potencjalne interferencje	Liczba replikatów	Badane stężenie
Walgancyklowir	3	4,83 mg/dl
Wankomycyna	3	12 mg/dl

Tabela 14: Substancje egzogenne dla moczu

Substancja powodująca potencjalne interferencje	Liczba replikatów	Badane stężenie
Acetaminofen	3	3 mg/dl
Kwas acetylosalicylowy	3	3 mg/dl
Klotrimazol	3	0,50 mg/dl
Ibuprofen	3	21,9 mg/dl
Metronidazol	3	12,3 mg/dl
Naproxen	3	36 mg/dl
Chlorowodorek fenazopirydyny	3	79,5 mg/dl
Glikol propylenowy	3	135 mg/dl
Talk	3	5 mg/dl

Swoistość analityczna

Potencjalna reaktywność krzyżowa z patogenami wymienionymi w Tabeli 15 została oceniona w ludzkiej BKV-ujemnej matrycy w obecności lub nieobecności 2,37 log j.m./ml i 2,69 log j.m./ml BKV odpowiednio w osoczu i moczu. Patogeny badano w najwyższym dostępnym stężeniu. Nie zaobserwowano żadnej reakcji krzyżowej ani zakłócenia dokładności oznaczania ilościowego.

Tabela 15: Patogeny badane pod kątem swoistości analitycznej

Mikroorganizm/patogen	Stężenie	Mikroorganizm/patogen	Stężenie
ADV-5	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml	Ludzki herpeswirus typu 7	1,00E+03 TCID ₅₀ /ml
<i>Aspergillus niger</i>	1,00E+06 CFU/ml	Ludzki herpeswirus typu 8	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Bacillus cereus</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06 cz. wir./ml
<i>Bacillus subtilis</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Candida glabrata</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Candida parapsilosis</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium avium</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Candida tropicalis</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 CCU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,00E+06 IFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1,00E+06 CFU/ml	Ludzki parwowirus B19	1,00E+05 j.m./ml
CMV	1,00E+05 cz. wir./ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1,00E+06 CFU/ml

Tabela 15: Patogeny badane pod kątem swoistości analitycznej (ciąg dalszy)

Mikroorganizm/patogen	Stężenie	Mikroorganizm/patogen	Stężenie
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06 CFU/ml
EBV	1,00E+05 cz. wir./ml	<i>Salmonella enterica</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,00E+06 CFU/ml
HBV	1,00E+05 j.m./ml	<i>Streptococcus bovis</i>	1,00E+06 CFU/ml
HCV	1,00E+04 j.m./ml	<i>Streptococcus oralis</i>	1,00E+06 CFU/ml
HIV-1	1,00E+05 j.m./ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/ml
HIV-2	1,00E+04 j.m./ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 CFU/ml
HSV-1	1,00E+06 TCID ₅₀ /ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,00E+05 Trofozoity/ml
HSV-2	1,00E+04 TCID ₅₀ /ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1,00E+06 cz. wir./ml
HPV-16 (komórki SiHa zakażone)	1,00E+05 komórek/ml	Wirus ospy wietrznej i półpaśca	1,00E+05 cz. wir./ml
Ludzki herpeswirus typu 6	1,00E+05 cz. wir./ml	—	—

CCU/ml = jednostki zmieniające kolonie/ml

CFU (j.t.k.)/ml = Jednostki tworzące kolonie na ml.

cp/ml = cząsteczki wirusa na ml.

j.t.i./ml = jednostki tworzące inkluzje na ml.

j.m./ml = jednostki międzynarodowe na ml.

TCID₅₀/ml = jednostki dawki zakaźnej dla hodowli tkankowej na ml.

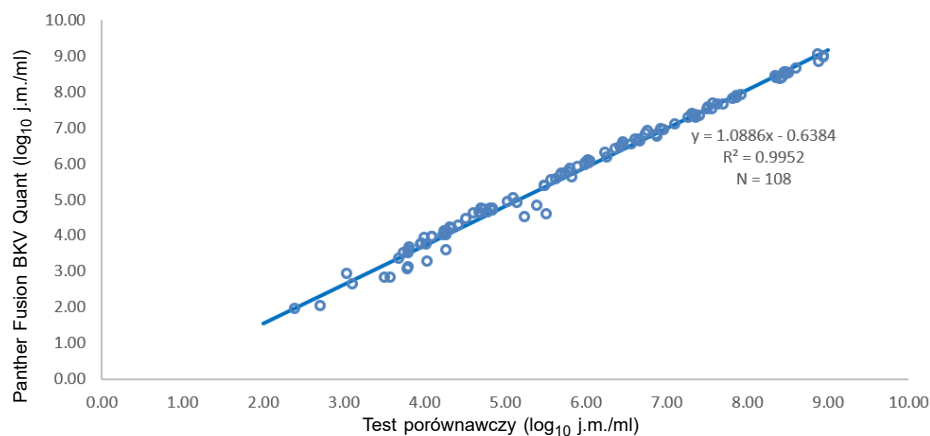
Korelacja metod

Badanie zostało zaprojektowane zgodnie z dokumentem CLSI EP09c.¹³

Skuteczność testu Panther Fusion BKV Quant porównano z testem porównawczym, testując retrospektywnie próbki pobrane i próbki zaaranżowane, obejmujące cały zakres liniowy.

Korelacja metod dla osocza

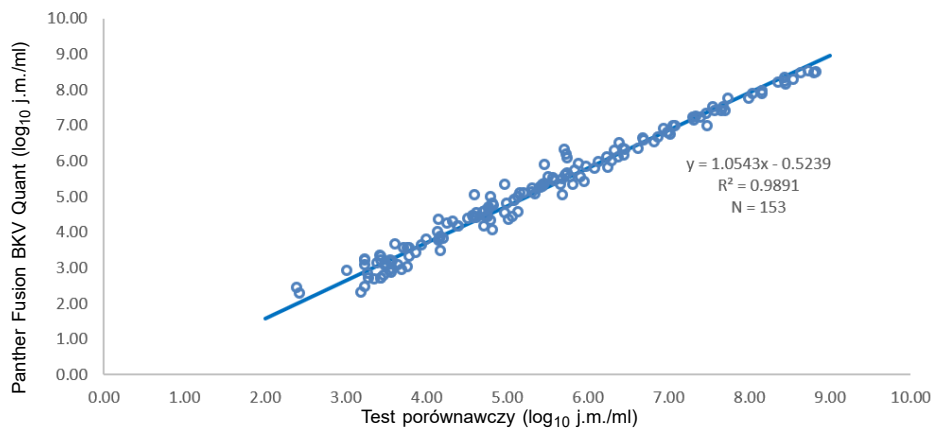
Do regresji liniowej wykorzystano łącznie 108 próbek w zakresie liniowym wspólnym dla obu testów dla regresji Deminga i wykazano współczynnik korelacji na poziomie 99,52% w osoczu, jak pokazano w Rysunek 7.



Rysunek 7. Korelacja między obciążeniem wirusem BKV w teście ilościowym Panther Fusion BKV i teście porównawczym w badaniu próbek osocza

Korelacja metod dla moczu

Do regresji liniowej wykorzystano łącznie 153 próbki w zakresie liniowym wspólnym dla obu testów dla regresji Deminga i wykazano korelację na poziomie 98,91% w moczu, jak pokazano w Rysunek 8.



Rysunek 8. Korelacja między obciążeniem wirusem BKV w teście ilościowym Panther Fusion BKV i teście porównawczym w badaniu próbek moczu

Wykazano wysoką zgodność wykrywania we wspólnym zakresie kwantyfikacji testu Fusion BKV Quant z porównywalnym testem do badania osocza EDTA i próbek moczu, tak jak ukazano w tabeli 16.

Tabela 16: Kliniczna zgodność próbek osocza i moczu

	Próbki osocza	Próbki moczu
%PPA	98,3 (CI95% – od 94,1 do 99,5)	100,0 (CI95% – od 97,7 do 100,0)
%NPA	100,0 (CI95% – od 97,9 do 100,0)	100,0 (CI95% – od 97,3 do 100,0)

Przenoszenie/zanieczyszczenie krzyżowe

Przenoszenie zostało ocenione przy użyciu próbek STM z wysokim mianem z domieszką wirusa BKV ($1,00E+09$ j.m./ml) , przeplatanych pomiędzy próbkami BKV-ujemnymi w układzie szachownicy. Testy przeprowadzono w 5 seriach. Ogólny wskaźnik przenoszenia wyniósł 0,00% (0/150).

Bibliografia

1. Muhsin SA, Wojciechowski D. 2019. BK Virus In transplant recipients: current perspectives. *Transpl Res Risk Manag.* 11:47-58.
2. van Aalderen MC, Heutinck KM, Huisman C. i in. 2012. BK virus infection in transplant recipients: clinical manifestations, treatment options and the immune response. *Neth J Med.* maj;70(4):172-183. PMID:264162
3. Hirsch HH, Randhawa PS, AST Infectious Diseases Community of Practice. 2019. BK polyomavirus in solid organ transplantation–Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant.* wrz;33(9): e13528. doi:10.1111/ctr.13528. Epub 10 kwietnia 2019. PMID:30859620
4. Dalianis T, Ericksson BM, Felldin M. i in. 2019. Management of BK-virus infection–Swedish recommendations. *Infect Dis (Lond).* 51(7):479-484. doi:10.1080/23744235.2019.1595130
5. 1st WHO International Standard for BK Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 14/212, wersja 3.0).
6. Clinical & Laboratory Standards Institute. Document M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Strona internetowa CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (4 kwietnia 2022)
7. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guidelines – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, PA.
8. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guidelines. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
9. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
10. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2014. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-03. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
11. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Interference Testing in Clinical Chemistry – Third Edition. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
12. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI document EP37, 1st Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI document EP09c, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Dane kontaktowe i historia wersji



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



Osoba odpowiedzialna w Wielkiej Brytanii:
Hologic Ltd.
Oaks Business Park, Crewe Road
Wythenshawe, Manchester, M23 9HZ
Wielka Brytania

Sponsor w Australii:
Hologic (Australia i Nowa Zelandia) Pty Ltd
Macquarie Park, NSW 2113

Adres e-mail i numer telefonu działu pomocy technicznej i obsługi klienta właściwe dla danego kraju można znaleźć na stronie www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther i Panther Fusion oraz powiązane logo są znakami towarowymi i/lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub jednostek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

Quasar jest zastrzeżonym znakiem towarowym i posiada licencję Biosearch Technologies, Inc.

Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem USA spośród wymienionych na stronie www.hologic.com/patents.

©2022-2025 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

AW-26020-3401 wer. 002
2025-03

Historia wersji	Data	Opis
AW-26020-001 Wer. 003	marzec 2025 r.	<i>Ta wersja jest zgodna z AW-26020-001 wer. 003.</i> (This version aligns with AW-26020-001 Rev. 003.)