

EBV Quant Assay (Panther Fusion® System)

In vitro diagnosztikai használatra

Kizárólag USA-ból történő exportra

TARTALOMJEGYZÉK

Általános információk	2
Rendeltetésszerű használat	2
A teszt összefoglalása és leírása	2
Az eljárás elve	2
Figyelmeztetések és óvintézkedések	3
Reagenstárolási és -kezelési előírások	6
Mintavétel, feldolgozás és tárolás	7
Minták a Panther Fusion System fedélzetén	8
A vizsgálati minta szállítása	8
Panther Fusion System	9
A EBV vizsgálathoz biztosított reagensek és anyagok	9
Szükséges, de külön beszerezhető anyagok	10
Opcionális anyagok	11
Panther Fusion rendszer teszteljárás	11
Megjegyzések az eljáráshoz	13
Minőségellenőrzés	14
A vizsgálat kalibrálása	14
Negatív és pozitív kontrollok	14
Belső kontroll	14
Az eredmények értelmezése	15
Korlátozások	16
Teljesítőképesség	17
Kimutatási határérték a WHO 1. nemzetközi szabványának alkalmazásával	17
Lineáris tartomány	18
A WHO 1. nemzetközi szabványán alapuló kvantitatív meghatározás felső határértéke	18
A kvantitatív meghatározás alsó határértékének igazolása az egyes EBV-genotípusok esetében	19
Visszavezethetőség az 1. WHO nemzetközi standardra	20
Laboratóriumon belüli pontosság	21
Potenciálisan zavaró anyagok	21
Analitikai specificitás	23
Módszer korreláció	24
Átvitel/keresztzennyeződés	24
Irodalomjegyzék	25
Kapcsolatfelvételi információk és átdolgozási előzmények	26

Általános információk

Rendeltetésszerű használat

A Panther Fusion® EBV Quant vizsgálat egy teljes mértékben automatizált, valós idejű PCR (RT-PCR) *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt a humán Epstein–Barr-vírus (EBV) DNS-ének kvantitatív meghatározására humán EDTA-s plazmamintában.

A Panther Fusion EBV Quant vizsgálat szolid szerv-transzplantáción, illetve vérképzősejt-transzplantáción átesett betegek diagnosztizálásának és kezelésének elősegítésére szolgál.

A Panther Fusion EBV Quant vizsgálat nem az EBV vérben vagy vérképzősejtekben való jelenlétének szűrésére szolgál. Ezt a vizsgálatot a Panther Fusion rendszerben történő használatra tervezték.

A teszt összefoglalása és leírása

Az EBV mindenütt jelen lévő, lineáris, 172 kb méretű, kettős szálú DNS-t tartalmazó vírus, amely a herpeszvírusok családjába tartozik. Két fő EBV-genotípus létezik, az 1-es és a 2-es típus, amelyeket az *EBNA-2* génben mutató eltérések különböztetnek meg.

Az elsődleges fertőzést követően az EBV bejut a keringő B-limfocitákba, majd látens állapotban marad. Becslések szerint a világ lakosságának 90%-a EBV-fertőzött.¹ Immunkompetens egyénekben az EBV-fertőzés gyermekkorban tünetmentes lehet. Felnőtteknél azonban az EBV-fertőzés mononucleosis infectiosához vezethet,² és különböző típusú rákos megbetegedésekkel is összefüggést mutat: limfómákkal, leukémiákkal, rosszindulatú hámdaganatokkal és gyomorrákkal.³

Immunkompromittált egyénekben, például transzplantációban részesülőkben és humán immundeficiencia vírussal (HIV) fertőzött egyénekben az EBV újraaktiválódása malignus limfoprolifériót eredményezhet, és a morbiditás, valamint a mortalitás fontos oka. Ezen EBV-vel összefüggő daganatok többsége, amelyeket „transzplantáció utáni limfoproliferatív betegségnek” (PTLD) neveznek, gyakran a transzplantációt követő első évben fordul elő.³

Transzplantált betegeknél az EBV-fertőzés és a betegség rendszeres ellenőrzésének előnyben részesített módszere a teljesvér- vagy plazmamintákból végzett kvantitatív nukleinsav-amplifikációs vizsgálat, mivel gyors, érzékeny, kényelmes és nem invazív. A legújabb irányelvek az EBV-vírusterhelés hetente történő ellenőrzését javasolják az EBV elleni terápia megkezdésére vonatkozó döntések támogatása és a terápiára adott válasz monitorozása érdekében.⁴

Általánosságban elmondható, hogy nagyobb vírusterhelési értékek az EBV-vel összefüggő betegségek fokozott kockázatával korrelálnak.⁵ Ezért az EBV DNS kvantitatív meghatározása a klinikai képpel és az egyéb laboratóriumi markerekkel együtt alapvető fontosságú az EBV-fertőzött betegek kezelésében.

Az eljárás elve

A Panther Fusion rendszer teljesen automatizálja a vizsgálati minta feldolgozását, beleértve a sejtlízist, a nukleinsav-megkötést, az amplifikációt és a detektálást a Panther Fusion EBV Quant vizsgálatához. A Panther Fusion EBV Quant vizsgálat az erősen konzervált *EBNA-1* gént veszi célba a EBV DNS pontos kvantitatív meghatározásának biztosítása érdekében. A vizsgálatot a WHO 1. nemzetközi EBV-szabványa szerint egységesítették (NIBSC kód: 09/260) EBV esetén.⁶

Mintafeldolgozás és nukleinsav-megkötés: A rendszer automatikusan hozzáad egy belső kontrollt (IC-B) minden egyes mintához az elkészített Fusion megkötő reagens-B (wFCR-B) segítségével, hogy a minta feldolgozása, az amplifikáció és a detektálás során a reagens hibája vagy gátló anyagok által okozott interferenciát ellenőrizni lehessen. A vizsgálati mintákat először a Fusion megkötő reagens-B (FCR-B) és a Fusion erősítő reagens-B (FER-B) reagensekhez adják, hogy a nukleinsavat felszabadítsák a mágneses részecskékhez történő hibridizáció céljából. A megkötött részecskéket ezután mágneses mezőben, enyhe mosószerrel végzett mosási lépések sorozatával választják el a visszamaradt mintamátrixtól. A megkötött nukleinsavat ezután egy alacsony ionerősségű reagenssel (Panther Fusion elúciós puffer) eluálják a mágneses részecskékről.

Megjegyzés: A Panther Fusion rendszer adja hozzá az IC-B-t az FCR-B-hez. Miután az IC-B hozzáadásra került az FCR-B-hez, azt wFCR-B-nek nevezik.

PCR-amplifikáció és a fluoreszcencia detektálása: Liofilizált egyszeri egységdózisú PCR-törzselegyet oldanak fel a Panther Fusion Reconstitution Buffer I-gyel, és ezt reakciócsőben az eluált nukleinsavval kombinálják. A Panther Fusion olajreagens hozzáadásával megakadályozható a párolgás a PCR folyamata során. Ezután PCR-alapú célamplifikáció történik célspecifikus forward és reverse primerekkel, valamint egy fluoreszcenciás jelet adó próbával.

A Panther Fusion rendszer megadja a vizsgálati mintákban lévő EBV-koncentrációval arányos Ct-értéket. A minta koncentrációját a Panther Fusion rendszer szoftvere határozza meg az egyes reakciók EBV Ct-értékeinek felhasználásával és ezek kalibrációs görbével való összehasonlításával. Az EBV-eredményeket NE/mL-ben és $\log_{10}$ NE/mL-ben jelenti a rendszer a plazmamintáknál. A célanaliteket és a Panther Fusion rendszeren történő detektálásukra használt csatornákat az alábbi táblázat foglalja össze:

Cél	Célzott gén	Készülékcsatorna
EBV	EBNA-1	HEX
Belső kontroll	Nem alkalmazható	Quasar® 705

Figyelmeztetések és óvintézkedések

- In vitro* diagnosztikai használatra.
- Szakemberek általi használatra.
- A vizsgálat elvégzése előtt gondosan olvassa el a teljes használati utasítást és a Panther®/ Panther Fusion System kezelői kézikönyv dokumentumot.
- A Panther Fusion erősítő reagens-B (FER-B) maró hatású, lenyelve káros, és súlyos bőrgéget és szemkárosodást okoz.
- Ezeket az eljárásokat kizárólag ennek a vizsgálatnak a használatára és a potenciálisan fertőző anyagok kezelésére megfelelően képzett személyzet végezheti. Kiömlés esetén azonnal fertőtlenítsa a megfelelő helyi eljárásokkal.
- A minták fertőzőek lehetnek. A vizsgálat végzése során alkalmazzon általános óvintézkedéseket. A megfelelő kezelési és ártalmatlanítási módszerek meghatározása a laboratórium vezetőjének felelőssége. Ezt a diagnosztikai eljárást kizárólag a fertőző anyagok kezelésére megfelelően kiképzett személyzet hajthatja végre.⁷

- G. Tartsa be a rutinszerű laboratóriumi óvintézkedéseket. Ne pipettázzon szájon át. A kijelölt munkaterületeken tilos az étkezés, ivás vagy dohányzás. A vizsgálati minták és a reagensek kezelése során viseljen eldobható, púdermentes kesztyűt, védőszemüveget és laborköpenyt. A vizsgálati minták és a reagensek kezelését követően a kezét alaposan meg kell mosni.
- H. Kizárólag a gyártótól beszerzett vagy a gyártó által előírt egyszer használatos laboratóriumi eszközök használhatók.
- I. A munkafelületeket, pipettákat és egyéb felszereléseket rendszeresen dekontaminálni kell 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal.
- J. Minden olyan anyagot, amely érintkezett a vizsgálati mintákkal és a reagensekkel, a vonatkozó nemzeti, nemzetközi és regionális előírásoknak megfelelően ártalmatlanítson.
- K. A vizsgálati minta épségének megőrzése érdekében megfelelő tárolási körülményeket kell biztosítani a minta szállítása során. A vizsgálati minta stabilitását az ajánlástól eltérő szállítási körülmények között nem értékelték.
- L. A minták kezelési lépései során kerülje el a keresztszennyezést. Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolok terjedése miatti szennyezést, amikor a vizsgálati mintákat fellazítja vagy kibontja. A vizsgálati minták nagyon magas koncentrációban tartalmazhatják a vírust vagy más mikroorganizmusokat. Ügyeljen arra, hogy a mintatartályok ne érintkezzenek egymással, és az ártalmatlanítás során ne vigye az elhasznált anyagokat a nyitott tárolóedények fölé. Ha megérinti a vizsgálati mintákat, cserélje le a kesztyűjét.
- M. A lejáratí idő után ne használja a reagenseket, kalibrátorokat vagy kontrollokat.
- N. A vizsgálati komponenseket az ajánlott tárolási körülmények között tárolja. További információkért lásd: *Reagenstárolási és -kezelési előírások és Panther Fusion rendszer teszteljárás*.
- O. Ne öntse össze a vizsgálati reagenseket vagy folyadékokat. Ne tölts fel a reagenseket vagy folyadékokat; a Panther Fusion rendszer ellenőrzi a reagensszintet.
- P. Kerülje a reagensek mikrobiális vagy nukleázzal történő szennyeződését.
- Q. A minőségellenőrzési követelményeket a helyi, állami és/vagy szövetségi előírásoknak vagy akkreditációs követelményeknek, valamint a laboratórium szabványos minőségellenőrzési eljárásainak megfelelően kell elvégezni.
- R. Ne használja a vizsgálati kazettát, ha a tároló tasak pecsétje hiányzik, vagy ha a vizsgálati kazetta fóliája nem sértetlen. Ha bármelyik előfordul, lépjen kapcsolatba a Hologic műszaki ügyfélszolgálatával.
- S. Ne használja a folyadékcsomagokat, ha a fólia nem sértetlen. Ha ez előfordul, lépjen kapcsolatba a Hologic műszaki ügyfélszolgálatával.
- T. Óvatosan kezelje a vizsgálati kazettákat. Ne ejtse le vagy fordítsa meg a vizsgálati kazettákat. Kerülje a környezeti fénynek való tartós kitettséget.
- U. A készletben lévő egyes reagensek R- és S-mondatokkal vannak ellátva.

Megjegyzés: A veszélyjelző mondatok megfelelnek az EU biztonsági adatlapokon (Safety Data Sheets, SDS) alkalmazott osztályoknak. Az Ön régiójában használt veszélyjelző információkat lásd a weboldalunkon – www.hologicsds.com – található biztonsági adatlap könyvtár régióspecifikus biztonsági adatlapján (SDS). A szimbólumokkal kapcsolatos további információkért lásd a www.hologic.com/package-inserts weboldalon található szimbólummagyarázatot.

EU H-mondatok	
	Panther Fusion EBV Quant vizsgálati kazetta ALFA-CIKLODEXTRIN 20–25% — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
	Panther Fusion megkötő reagens-B (FCR-B) HEPES, 15–20% LAURILSZULFÁT LÍTIUMSÓ 10–15% BOROSTYÁNKŐSÁV 1–5% LÍTIUM-HIDROXID, MONOHIDRÁT 1–5% — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
 	Panther Fusion erősítő reagens-B (FER-B) LÍTIUM-HIDROXID MONOHIDRÁT 5–10% VESZÉLY H302 – Lenyelve ártalmas. H314 – Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. P264 – A használatot követően az arcot, kezét és a kitett bőrt alaposan meg kell mosni. P270 – A termék használata közben tilos enni, inni vagy dohányozni. P330 – A száját ki kell öblíteni. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben. P260 – A por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzése tilos. P280 – Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. P301 + P330 + P331 – LENYELÉS ESETÉN: A száját ki kell öblíteni. TILOS hánytatni. P303 + P361 + P353 – HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel [vagy zuhanyozás]. P304 + P340 – BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. P305 + P351 + P338 – SZEMBE KERÜLÉS esetén: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. P310 – Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P321 – Szakellátás (lásd a kiegészítő elsősegély-nyújtási utasításokat a címkén). P363 – A szennyezett ruhát újbóli használat előtt ki kell mosni. P405 – Elzárva tárolandó.

Reagenstárolási és -kezelési előírások

A. A következő táblázat a vizsgálat tárolási és kezelési követelményeit tartalmazza.

Reagens	Bontatlan tárolás	Stabilitás a készülékben/felbontás után ¹	Bontott tárolás
Panther Fusion EBV Quant vizsgálati kazetta	2 °C és 8 °C között	60 nap	2 °C és 8 °C között ²
Panther Fusion megkötő reagens-B (FCR-B)	15 °C és 30 °C között	30 nap	15 °C és 30 °C között
Panther Fusion erősítő reagens-B (FER-B)	15 °C és 30 °C között	30 nap	15 °C és 30 °C között
Panther Fusion belső kontroll-B (IC-B)	2 °C és 8 °C között	(wFCR-B-ben)	Nem alkalmazható
Panther Fusion elúciós puffer	15 °C és 30 °C között	60 nap	15 °C és 30 °C között
Panther Fusion olaj	15 °C és 30 °C között	60 nap	15 °C és 30 °C között
Panther Fusion rekonstitúciós puffer I	15 °C és 30 °C között	60 nap	15 °C és 30 °C között
Panther Fusion EBV Quant kalibrátorok (1–5)	-15 °C és -35 °C között	Egyszer használatos üveg	Nem alkalmazható – egyszeri használatra
Panther Fusion EBV-BKV Quant magas pozitív kontroll	-15 °C és -35 °C között	Egyszer használatos üveg	Nem alkalmazható – egyszeri használatra
Panther Fusion EBV-BKV Quant alacsony pozitív kontroll	-15 °C és -35 °C között	Egyszer használatos üveg	Nem alkalmazható – egyszeri használatra
Panther Fusion transzplantáció negatív kontroll (III)	-15 °C és -35 °C között	Egyszer használatos üveg	Nem alkalmazható – egyszeri használatra

Amikor a reagenseket kiveszik a Panther Fusion rendszerből, azonnal helyezze vissza őket a megfelelő tárolási hőmérsékletre.

¹ A készülékbe helyezett anyagok stabilitási ideje a Panther Fusion rendszer EBV Quant vizsgálati kazetta, FCR-B, FER-B és IC-B esetében a reagensnek a Panther Fusion rendszerbe történő behelyezésekor kezdődik. A készülékbe helyezett anyagok stabilitási ideje a Panther Fusion rekonstitúciós puffer I, a Panther Fusion elúciós puffer és a Panther Fusion olaj esetében a reagenscsomag első használatakor kezdődik.

² Ha kivette a Panther Fusion rendszerből, tárolja a vizsgálati kazettát egy légmentesen záródó, nedvszívószerrel ellátott tartályban, az ajánlott tárolási hőmérsékleten.

B. A működő Panther Fusion megkötő reagens-B (wFCR-B) és a Panther Fusion erősítő reagens-B (FER-B) 60 napig stabil, ha lefedve és 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten tárolják. Nem szabad hűtve tárolni.

C. Dobja ki a fel nem használt, a stabilitási időt meghaladó reagenseket.

D. Kerülje a keresztszennyezést a reagensok kezelése és tárolása során.

E. **Ne fagyassza le a reagenseket.**

F. **Ne fagyassza vissza a kontrollokat vagy a kalibrátorokat.**

G. Az EBV Quant Assay bontatlan kazetták, kalibrátorok (1-5) és kontrollok a gyártástól számított 18 hónapig stabilak az ajánlott tárolási körülmények között. Lásd a csomagoláson feltüntetett lejárati időt.

Mintavétel, feldolgozás és tárolás

Vizsgálati minták – A betegtől levett és megfelelő szállítórendszerbe helyezett klinikai anyagok. A Panther Fusion EBV Quant vizsgálat esetében ez EDTA antikoagulánst tartalmazó csövekbe, illetve plazma-előkészítő csövekbe (PPT) levett teljesvér-mintákat jelent a plazmaminták vagy plazma előkészítő csövek (PPT) előkészítéséhez.

Mintaanyagok – Általánosabb kifejezés a Panther Fusion rendszeren végzett teszteléshez használt bármely anyagra, beleértve a vizsgálati mintákat, a kalibrátorokat és a kontrollokat.

Megjegyzés: Minden vizsgálati mintát úgy kell kezelni, mintha potenciálisan fertőző ágenseket tartalmazna. Az általános óvintézkedéseket kell alkalmazni.

Megjegyzés: A vizsgálati minták kezelési lépései során ügyeljen arra, hogy ne alakuljon ki keresztszennyezés. Például a felhasznált anyagokat ne a nyitott csövek felett áthaladva dobja ki.

Megjegyzés: Csak műanyag másodlagos csövek tárolása ajánlott.

A. Mintavétel

A következő üveg- vagy műanyag csövekbe levett teljes vérminták használhatók plazma nyerésére:

- EDTA véralvadásgátlót tartalmazó csövek
- Plazmaelőkészítő csövek (PPT)

B. Mintafeldolgozás

1. Plazma: A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintát a mintavételtől számított 24 órán belül centrifugálni kell. A plazma EDTA-s vagy PPT elsődleges csövekből is előállítható. Válassza el a plazmát a vörösvértest-pellettől a gyártó által a használt csőre vonatkozóan megadott utasításokat követve. A plazma a Panther Fusion rendszerben elsődleges csőben vizsgálható, vagy átvihető egy másodlagos csőbe, például egy Aptima® vizsgálati minta alikvot (SAT) csőbe.

A megfelelő mintatérfogat biztosítása érdekében tanulmányozza a következő táblázatot:

1. táblázat: Minimális mintamennyiség

Cső (méret és típus)	Minimális térfogat 1 ismétléshez
Aptima minta alikvot cső (SAT)	0,6 ml
12 x 75 mm	0,9 ml
13 x 100 mm	0,9 ml
13 x 100 mm géllal	0,7 ml
16 x 100 mm géllal	1,1 ml

Ha nem tesztelik azonnal, a plazma a következő pontban szereplő előírásoknak megfelelően tárolható: *Vizsgálati minta tárolási feltételei*. Ha a plazmát átviszik másodlagos csőbe, -20 °C-on lefagyasztható. Ne fagyassza le az EDTA-s elsődleges mintavételi csőben lévő plazmamintákat.

C. Vizsgálati minta tárolási feltételei

A vizsgálati minták a következő feltételek mellett tárolhatók:

1. Plazma stabilitása

- A feldolgozatlan vizsgálati minták a centrifugálást követően 2 °C és 30 °C között 24 órán át stabilak.
- A feldolgozatlan vizsgálati minták a centrifugálást követően 2 °C és 8 °C között 5 napig stabilak.
- A feldolgozatlan és feldolgozott minták eltarthatósága –20 °C-on 60 nap.
- A fagyasztott vizsgálati minták három fagyasztási/kiolvasztási cikluson keresztül stabilak.

Minták a Panther Fusion System fedélzetén

A plazmamintákat a Panther Fusion rendszerben legfeljebb 8 órán át lehet fedetlenül hagyni. A minták kivehetők a Panther Fusion rendszerből, és vizsgálhatók, amennyiben a fedélzetén töltött teljes idő nem haladja meg a 8 órát a minta Panther Fusion rendszer általi pipettázása előtt.

A vizsgálati minta szállítása

Biztosítsa a vizsgálati minták tárolási körülményeit a szállítás során az itt leírtak szerint:

Mintavétel, feldolgozás és tárolás.

Megjegyzés: A vizsgálati minták szállítását a vonatkozó nemzeti, nemzetközi és regionális szállítási előírásoknak megfelelően kell végezni.

Panther Fusion System

A Panther Fusion rendszer egy integrált nukleinsavteszt-rendszer, amely teljesen automatizálja a Panther Fusion vizsgálatok elvégzéséhez szükséges összes lépést a mintafeldolgozástól az amplifikáción, detektáláson és adatcsökkentésen keresztül.

A EBV vizsgálatához biztosított reagensek és anyagok

Vizsgálat csomagolása

Komponensek	Alkatrészszám	Tárolás
Panther Fusion EBV Quant Assay kalibrátorok		
PCAL 1 qEBV, 3 db dobozonként	PRD-07159	-15 °C és -35 °C között
PCAL 2 qEBV, 3 db dobozonként		
PCAL 3 qEBV, 3 db dobozonként		
PCAL 4 qEBV, 3 db dobozonként		
PCAL 5 qEBV, 3 db dobozonként		
Panther Fusion EBV–BKV Quant Assay kontrollok		
HPC magas pozitív kontroll cső, 5 db dobozonként	PRD-07158	-15 °C és -35 °C között
LPC alacsony pozitív kontroll cső, 5 db dobozonként		
NC III transzplantáció negatív kontroll cső, 5 db dobozonként		
Panther Fusion EBV Quant Assay kazetta 96 teszthez	PRD-07157	2 °C és 8 °C között
Panther Fusion qEBV vizsgálati kazetta, 12 teszt, 8 db dobozonként		
Panther Fusion belső kontroll-B 960 teszthez	PRD-06234	2 °C és 8 °C között
Panther Fusion belső kontroll-B cső, 4 db dobozonként		
Panther Fusion extrakciós reagens-B 960 teszthez		
Panther Fusion megkötő reagens-B palack, 240 teszthez, 4 db dobozonként	PRD-06232	15 °C és 30 °C között
Panther Fusion erősítő reagens-B palack, 240 teszthez, 4 db dobozonként		
Panther Fusion elúciós puffer 2400 teszthez	PRD-04334	15 °C és 30 °C között
Panther Fusion elúciós puffer csomag, 1200 teszthez, 2 db dobozonként		
Panther Fusion rekonstitúciós puffer I 1920 teszthez	PRD-04333	15 °C és 30 °C között
Panther Fusion rekonstitúciós puffer I csomag, 960 teszthez, 2 db dobozonként		
Panther Fusion olajreagens 1920 teszthez	PRD-04335	15 °C és 30 °C között
Panther Fusion olajreagens, 960 teszthez, 2 db dobozonként		

Szükséges, de külön beszerezhető anyagok

Megjegyzés: Ellenkező megjegyzés hiányában a Hologic által értékesített anyagok mellett fel van tüntetve a katalógusszám.

Anyag	Kat. sz.
Panther® System	303095
Panther Fusion Module	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Panther System, folyamatos folyadékellátás és hulladékkezelés (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® vizsgálatifolyadék-készlet (Aptima mosóoldat, Aptima dezaktivációs-folyadék-puffer és Aptima olajreagens)	303014 (1000 teszt)
Többcsöves egységek (MTU-k)	104772-02
Panther hulladékzsákkészlet	902731
Panther hulladéktároló fedél	504405
Vagy Panther System futtatási készlet MTU-kat, hulladékzsákokat, hulladéktároló fedeleket, vizsgálati folyadékokat és automatikus érzékelőket tartalmaz*	303096 (5000 teszt)
Hegyek, 1000 µL, filteres, folyadékérzékelős, vezetőképes és eldobható: <i>Nem minden termék érhető el minden régióban. A régiójára vonatkozó információért forduljon a helyi képviselőhöz.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Panther Fusion Tube Trays (csőtálcák), 1008 teszt, 18 tálcá dobozonként	PRD-04000
Hologic kemény cserekupak (egyszer használatos csőkupak)	PRD-06720 (100 db kupak tasakonként)
Fehérítőszer 5,% – 8,25% (0,7 M – 1,16 M) nátrium-hipoklorit oldat A hígított nátrium-hipoklorit oldat elkészítésére vonatkozó utasításokat lásd a <i>Panther/Panther Fusion rendszer kezelői kézikönyvében</i> .	—
Eldobható hintőpormentes kesztyűk	—
Műanyag hátlappal borított laboratóriumi terítők	—
Szállmentes törölőkendő	—
Pipettor	—
Hegyek	—
Elsődleges gyűjtőcső (EDTA és PPT) lehetőségek: 13 mm × 100 mm 12 mm × 75 mm 16 mm × 100 mm	—
Centrifuga	—
Vortex keverő	—

*Csak a Panther Aptima TMA vizsgálatokhoz szükséges.

Opcionális anyagok

Anyag	Kat. sz.
Másodlagos cső opciók:	
12 mm × 75 mm	—
13 mm × 100 mm	—
16 mm × 100 mm	—
Aptima mintaalikvot cső (SAT) csomag (tasakonként 100 cső)	FAB-18184
Szállítócső kupak (100 csomag) kupak SAT csőhöz	504415
Aptima vizsgálatiminta-hígító	PRD-03003
Aptima vizsgálatiminta-hígító készlet Aptima vizsgálatiminta-hígítót, 100 SAT csövet és 100 kupakot tartalmaz	PRD-03478
Átviteli pipetták	—
Csőrázó	—

Panther Fusion rendszer teszteljárás

Megjegyzés: További információkért Lásd a Panther/Panther Fusion System kezelői kézikönyvét.

A. A munkaterület előkészítése

1. Törölje le a munkafelületeket 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal. Hagyja, hogy a nátrium-hipoklorit oldat legalább 1 percig érintkezzen a felületekkel, majd öblítse le ioncserélt vízzel. Ne hagyja megszáradni a nátrium-hipoklorit oldatot. Fedje le a vizsgálóasztal felületét tiszta, műanyag hátlappal borított, nedvszívó laboratóriumi terítővel.
2. Tisztítson meg egy külön munkafelületet a minták előkészítéséhez. A fent leírt eljárás szerint járjon el (A.1 lépés).
3. Tisztítsa meg a pipettorokat. A fent leírt tisztítási eljárás szerint járjon el (A.1. lépés).

B. Kalibrátorok és kontrollok előkészítése

Hagyja, hogy a kalibrátorok és a kontrollok elérjék a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet a feldolgozás előtt az alábbiak szerint:

1. Vegye ki a kalibrátorokat és a kontrollokat a tárolóból (-15 °C és -35 °C között), és helyezze 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletre. A felolvasztás során óvatosan fordítsa meg az egyes csöveket, hogy alaposan összekeveredjenek. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a cső tartalma teljesen felolvadt.

Választható. A kalibráló és a kontrollcsöveket egy csőrázóra lehet helyezni, hogy alaposan összekeveredjenek. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a cső tartalma teljesen felolvadt.

Megjegyzés: Kerülje a túlzott habképződést a kalibrátorok és a kontrollok megfordításakor. A hab zavarja a Panther Fusion rendszer szintérzékelő funkcióját.

2. Amikor a cső tartalma felolvadt, törölje szárazra a cső külsejét egy tiszta, száraz, eldobható törlőkendővel.
3. A szennyeződés megelőzése érdekében ekkor még ne nyissa ki a csöveket.

C. Reagens-előkészítés

1. Vegye ki az IC-B, FCR-B és FER-B palackokat a tárolóból.
2. Keverje az FCR-B-t, amíg a gyöngyök teljesen szuszpendálódnak. Kerülje a habképződést ebben a lépésben.
3. Nyissa ki az IC-B, FCR-B és FER-B palackokat, és dobja ki a kupakokat. Nyissa ki a TCR-ajtót a Panther Fusion rendszer felső fülkéjében.
4. Helyezze az IC-B, FCR-B és FER-B palackokat a megfelelő helyekre a TCR-kereken.
5. Zárja be a TCR-ajtót.

Megjegyzés: A Panther Fusion rendszer adja hozzá az IC-B-t az FCR-B-hez. Miután az IC-B hozzáadásra került az FCR-B-hez, azt wFCR-B-nek (működő FCR-B-nek) nevezik. Ha a wFCR-B és FER-B reagenseket eltávolítja a rendszerből, használjon új kupakokat, és azonnal tárolja a megfelelő tárolási körülményeknek megfelelően.

D. Vizsgálati minta kezelése

Megjegyzés: Mielőtt a vizsgálati mintákat a Panther Fusion rendszerbe töltené, készítsen elő vizsgálati mintákat az itt szereplő utasítások szerint: *Mintavétel, feldolgozás és tárolás*

Az állványba való betöltés előtt vizsgálja meg a mintacsöveket. Ha egy mintagyűjtő cső buborékokat tartalmaz, vagy kisebb a mennyisége, mint általában megfigyelhető, finoman koppintson a cső aljára, hogy a tartalom a cső aljára kerüljön.

E. Plazma vizsgálati minta kezelése

1. Győződjön meg arról, hogy az elsődleges csövekben lévő feldolgozott vizsgálati mintákat vagy a másodlagos csövekben lévő hígítatlan vizsgálati mintákat megfelelően tárolják a következő szerint: *Mintavétel, feldolgozás és tárolás*.
2. Ügyeljen arra, hogy a fagyasztott minták teljesen felolvadjanak. A felolvadt vizsgálati mintákat 3–5 másodpercig vortexelje.
3. Feldolgozás előtt hagyja a mintákat 15 °C–30 °C-ra melegedni. További fedélzeti információkért lásd: *Minták a Panther Fusion System fedélzetén*.
4. Győződjön meg arról, hogy minden egyes elsődleges vagy másodlagos cső megfelelő vizsgálati mintát tartalmaz. Az 1 ismétléshez szükséges minimális mintatérfogatot lásd: 1. táblázat.
5. Közvetlenül a vizsgálati mintáknak a mintatartó állványba való betöltése előtt centrifugálja az egyes mintákat 1000-3000 g-n 10 percig. Ebben a lépésben ne távolítsa el a kupakot. Az állvány betöltésével és a kupakok eltávolításával kapcsolatos információkat lásd alább: F.2. lépés.

F. A rendszer előkészítése

1. A Panther Fusion rendszer beállítására vonatkozó utasításokat, beleértve a minták, reagensek, vizsgálati kazetták és univerzális folyadékok betöltését lásd: *Lásd a Panther/Panther Fusion System kezelői kézikönyvét és Megjegyzések az eljáráshoz*.
2. Töltse be a mintákat a mintatartó állványba. Végezze el a következő lépéseket minden egyes mintagyűjtő csövön (vizsgálati minta, és szükség esetén kalibrátorok és kontrollok):
 - a. Lazítsa meg az egyik mintagyűjtő cső kupakját, de még ne vegye le.

Megjegyzés: Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolok terjedése miatti szennyeződést. Óvatosan lazítsa meg a minták kupakját.

- b. Töltse be a mintagyűjtő csövet a mintatartó állványba.
- c. Ismételje meg a 2.a és a 2.b lépést minden egyes fennmaradó minta esetében.
- d. Miután a mintákat betöltötte a mintatartó állványba, vegye le és dobja ki az egyes mintatartó állványokban lévő mintagyűjtő csövek kupakjait. A szennyeződés elkerülése érdekében ne vigye át a kupakot más mintatartó állványok vagy mintagyűjtő csövek felett.
- e. Ha szükséges, használjon új, eldobható transzferpipettát az esetleges buborékok vagy hab eltávolításához. A csőben lévő buborékok veszélyeztetik a Panther Fusion rendszer szintérzékelését.
- f. Amikor az utolsó kupakot is eltávolította, töltse be a mintatartó állványt a mintarekeszbe.

Megjegyzés: Ha egyidejűleg más vizsgálatokat és mintatípusokat is futtat, rögzítse a mintatartót, mielőtt a mintatartó állványt betölti a mintarekeszbe.

- g. A következő mintatartó állványnál ismételje meg a 2.a–2.f. lépéseket.

Megjegyzések az eljáráshoz

A. Kalibrátorok és kontrollok

1. A qEBV kalibrátorok (5 cső), az EBV–BKV alacsony pozitív kontroll (LPC), az EBV–BKV magas pozitív kontroll (HPC) és a transzplantációs negatív kontroll (NC III) csövek a Panther Fusion rendszerben a mintatartó állvány bármelyik pozíciójába és bármelyik mintarekeszsávba betölthetők. A kalibrátor és a kontroll pipettázása akkor kezdődik, amikor a EBV-mintákat már behelyezték a rendszerbe. A vizsgálati minták pipettázása akkor indul el, ha az alábbi feltételek egyike teljesül:
 - a. A rendszerben jelenleg zajlik a kalibrátorok és a kontrollok feldolgozása.
 - b. A kalibrátorok és kontrollok érvényes eredményei regisztrálásra kerülnek a rendszerben.
2. Miután a kalibrátor és a kontrollcsöveket pipettázták és feldolgozták a Panther Fusion EBV Quant vizsgálatához, a vizsgálati minták tesztelhetők. A kalibrációs eredmények 60 napig, a kontroll eredmények pedig legfeljebb 30 napig érvényesek (a rendszergazda által meghatározott gyakorisággal), **kivéve, ha:**
 - a. A kalibrátor-eredmények érvénytelenek.
 - b. A kontrolleredmények érvénytelenek.
 - c. A kezelő új kontrollok/kalibrátorok futtatását kezdeményezi a Panther Fusion rendszer szoftverében.
3. Minden egyes, a Panther Fusion rendszerbe betöltött új vizsgálati kazetta tételhez kalibráció szükséges, mielőtt azt a minták feldolgozására használná.
4. Minden kalibrátor és kontrollcső egyszer használható.

Minőségellenőrzés

A vizsgálat kalibrálása

Az érvényes eredmények előállítása érdekében el kell végezni a vizsgálat kalibrálását. Az öt pozitív kalibrátor három ismétlését kell lefuttatni minden alkalommal, amikor egy új vizsgálati kazetta tételt betölt a Panther Fusion rendszerbe. Az elvégzett kalibrálás legfeljebb 60 napon át érvényes. A Panther Fusion rendszer szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kalibrációra van szükség.

A feldolgozás során a Panther Fusion szoftver automatikusan ellenőrzi a kalibrációs görbe érvényességét. Ha a kalibrálás nem felel meg az érvényességi ellenőrzéseknek, a Panther Fusion rendszer automatikusan érvényteleníti az érintett mintákat, és a további minták pipettázása előtt egy új vizsgálati kalibrátor készlet futtatását kéri.

Alapértelmezetten a vizsgálat hígítatlan plazmaként dolgozza fel a mintákat.

Negatív és pozitív kontrollok

Az érvényes eredmények előállításához egy vizsgálati kontroll sorozatot kell tesztelni. Az NC III (transzplantáció negatív kontroll), az LPC (alacsony pozitív kontroll) és a HPC (magas pozitív kontroll) egy-egy ismétlését minden alkalommal tesztelni kell, amikor új vizsgálati kazetta tételt töltenek be a Panther Fusion rendszerbe, vagy amikor aktív kazettához tartozó érvényes kontrollok lejártak.

A Panther Fusion rendszer úgy van konfigurálva, hogy megkövetelje a vizsgálati kontrollok futtatását az adminisztrátor által meghatározott, legfeljebb 30 napos időközönként. A Panther Fusion rendszer szoftvere riasztja a kezelőt, ha a vizsgálati kontrollok tesztelése szükséges, és nem kezd új tesztek, amíg a vizsgálati kontrollok nincsenek betöltve és meg nem kezdték azok feldolgozását.

A feldolgozás során a vizsgálati kontrollok elfogadási kritériumait a Panther Fusion rendszer automatikusan ellenőrzi. Ahhoz, hogy az eredmények érvényesek legyenek, a vizsgálati kontrolloknak át kell esniük a Panther Fusion rendszer által elvégzett érvényességi ellenőrzések sorozatán.

Ha a vizsgálati kontrollok minden érvényességi ellenőrzésen megfelelnek, akkor azokat a adminisztrátor által megadott időintervallumokra érvényesnek tekintik. Az időintervallum letelte után a vizsgálati kontrollokat a Panther Fusion rendszer lejárnak tekinti, és új minta pipettázása előtt új vizsgálati kontroll-készletre van szükség.

Ha valamelyik vizsgálati kontroll nem felel meg az érvényességi ellenőrzéseknek, a Panther Fusion rendszer automatikusan érvényteleníti az érintett mintákat, és további minták pipettázása előtt egy új vizsgálati kontroll készletre van szükség.

Belső kontroll

Minden minta mellett egy belső kontrollt futtatunk az extrakciós folyamat során. A feldolgozás során a belső kontroll elfogadási kritériumait automatikusan ellenőrzi a Panther Fusion rendszerszoftver. A belső kontroll kimutatása nem szükséges azoknál a mintáknál, amelyek a EBV-re pozitívak. A belső kontrollt minden olyan mintában ki kell mutatni, amely EBV-re negatív; azokat a mintákat, amelyek nem felelnek meg az említett kritériumoknak, a rendszer érvénytelenként jelenti. Minden érvénytelen eredménnyel rendelkező mintaanyagot újra kell tesztelni.

A Panther Fusion rendszer szoftverét úgy tervezték, hogy pontosan ellenőrizze a folyamatokat, amikor az eljárásokat az ebben a használati utasításban és a *Panther/Panther Fusion rendszer kezelői kézikönyvben* foglalt utasítások szerint hajtják végre.

Az eredmények értelmezése

A Panther Fusion rendszer automatikusan meghatározza a EBV-DNS koncentrációját a minták és a kontrollok esetében az eredmények kalibrációs görbével való összehasonlításával. A EBV-DNS-koncentrációkat NE/mL és $\log_{10}$ NE/mL mértékegységben adjuk meg. Az eredmények értelmezése a 2. táblázatban található.

2. táblázat: Plazma eredmények értelmezése

Jelentett EBV Quant Assay eredmények		
NE/mL	Log ₁₀ érték	Értelmezés
Nem mutatható ki	Nem mutatható ki	EBV-DNS nem mutatható ki.
< 120 kimutatható	< 2,08	EBV-DNS kimutatható, de a mennyiségi meghatározás alsó határa (LLOQ) alatti szinten).
120 – 1.50E09	2,08 – 9,18	A EBV DNS-koncentrációja az LLOQ és az ULoQ NE/mL közötti kvantitatív tartományban van.
> 1.50E09	> 9,18	A EBV-DNS-koncentráció a mennyiségi meghatározás felső határértéke (ULoQ) felett van.
Érvénytelen ^a	Érvénytelen ^a	Hiba történt az eredmény létrehozásakor. A vizsgálati mintát újra kell tesztelni.

^A Az érvénytelen eredmények kék színű betűtípussal jelennek meg.

Korlátozások

- A. Ezt a vizsgálatot kizárólag az eljárás elvégzésére képzett személyzet végezheti el. Az utasítások be nem tartása téves eredményeket eredményezhet.
- B. A megbízható eredmények a megfelelő mintavételtől, -szállítástól, -tárolástól és -feldolgozástól függenek.
- C. A helyes laboratóriumi gyakorlatok és a használati utasításban meghatározott eljárások betartásával kerülje el a szennyeződést.
- D. A Panther Fusion EBC Quant vizsgálat primerei és/vagy próbái által lefedett, erősen konzervált vírusgenom-régiókban bekövetkező mutációk – bár ritkák – a vírus mennyiségének alábecslését vagy kimutatásának sikertelenségét eredményezhetik.
- E. A negatív eredmények nem zárják ki a EBV fertőzést és nem használhatók egyedüli alapként a kezeléssel vagy ellátással kapcsolatos döntésekhez.
- F. A pozitív eredmény a releváns vírusból származó nukleinsav kimutatását jelzi. A nukleinsav akkor is fennmaradhat, ha a vírus már életképtelen.

Teljesítőképesség

Kimutatási határérték a WHO 1. nemzetközi szabványának alkalmazásával

A vizsgálat kimutatási határát (LoD) a CLSI EP17-A2 szerint az EBV DNS azon koncentrációjaként határozzák meg, amely 95%-os vagy nagyobb valószínűséggel kimutatható.⁸

Kimutatási határérték plazmában a WHO-szabványok használatával

Az LoD-t a WHO 1. nemzetközi EBV-szabványa (NIBSC 09/260-es kód) EBV-negatív humán plazmában hígított paneljeinek vizsgálatával határozták meg. Minden hígításból legalább húsz (20) ismétlést teszteltek három reagens-tétel mindegyikével, így hígításonként összesen 60 ismétléssel. Probit-elemzést végeztek az előre jelzett kimutatási határértékek előállításához. A 3. táblázatban feltüntetett LoD-értékek a legmagasabb előre jelzett kimutatási határértékkel rendelkező reagens-tétel eredményei. Az 1. WHO nemzetközi szabványt használó Panther Fusion EBV Quant vizsgálat LoD értéke plazma esetében 54,1 NE/mL.

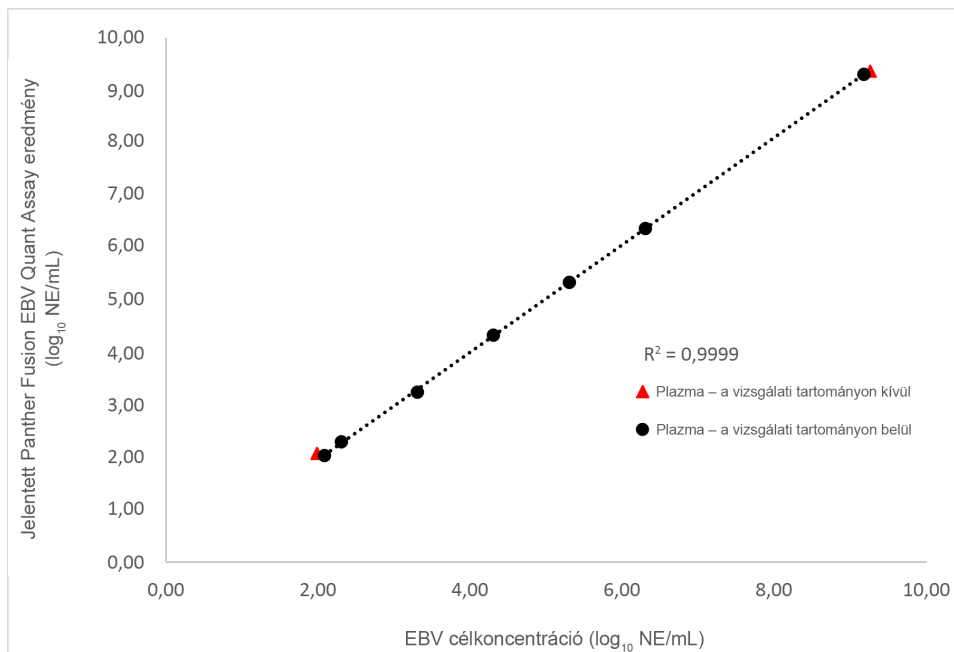
3. táblázat: Kimutatási határérték plazmában a WHO 1. nemzetközi EBV-szabványának alkalmazásával

Előre jelzett kimutatási határérték	Koncentráció (NE/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

Lineáris tartomány

Lineáris tartomány plazmában

A lineáris tartományt EBV-negatív humán plazmában hígított EBV-panelek vizsgálatával állapították meg a CLSI EP06-A szerint.⁹ A panelek koncentrációja 1,98 log NE/mL és 9,26 log NE/mL között változott. A Panther Fusion EBV Quant vizsgálat linearitást mutatott a vizsgált tartományban. A kvantitatív meghatározás felső határértéke (ULoQ) 9,18 log NE/mL volt a vizsgálatnál, lásd: 1. ábra.



1 ábra. Linearitás plazmában

A WHO 1. nemzetközi szabványán alapuló kvantitatív meghatározás felső határértéke

A kvantitatív meghatározás alsó határértéke (LLOQ) a CLSI EP17-A2 szerint az a legalacsonyabb koncentráció, amelynél a EBV kvantitatív meghatározása megbízhatóan elvégezhető.⁸ A teljes hibát a Westgard-modell segítségével becsülték: Teljes hiba (TE) = |bias| + 2 SD. A mérések pontosságának és precizitásának biztosítása érdekében a Panther Fusion EBV Quant vizsgálat teljes hibáját 1,2 log NE/mL-ben határozták meg, ahol az igazsághoz viszonyított torzításnak $\leq 0,5$ log NE/mL és a szórásnak $\leq 0,35$ log NE/mL kell lennie.

A kvantitatív meghatározás alsó határértéke plazmában a WHO-szabvány felhasználásával

Az LLOQ-t a WHO 1. nemzetközi EBV-szabványa (NIBSC 09/260-es kód) EBV-negatív humán plazmában hígított paneljeinek vizsgálatával határozták meg. Minden hígításból legalább húsz (20) ismétlést teszteltek három reagens-tétel mindegyikével, így hígításonként összesen 60 ismétléssel. A három reagens-tétel LLOQ-eredményei a 4. táblázatban láthatók. A WHO 1. nemzetközi EBV-szabványa alapján generált LLOQ plazmában 120 NE/mL (2,08 log NE/mL).

4. táblázat: A LLoQ meghatározása a plazmában hígított EBV-re vonatkozó 1. WHO nemzetközi standard használatával

Reagens-tétel	EBV Quant						
	N	N kimutatva	Célkoncentráció (log NE/mL)	Assay (log NE/mL)	SD (log NE/mL)	Torzítás (log NE/mL)	Számított TE (log NE/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 = szórás ≤ 0,35 (log NE/mL).

|Bias|=torzítás az igazsághoz képest ≤ 0,5 (log NE/mL).

Az LLoQ-koncentrációnak megfelelő és az egyes reagenstételeken tesztelt hígítás szürkével van kiemelve.

A kvantitatív meghatározás alsó határértékének igazolása az egyes EBV-genotípusok esetében

A kvantitatív meghatározás alsó határértékének meghatározása genotípusonként, plazmában

A WHO-standard használatával megállapított LLoQ-t EBV-negatív plazmába fecskendezett, az LLoQ 3-szorosával egyenlő, 1-es genotípusú EBV (Raji, Akata és B95-8) és 2-es genotípusú EBV (AG876, P3H1 és Jijoye) tesztelésével értékelték. Három ismétlést teszteltek minden egyes paneltagból egy reagens-tétellel. Az eredményeket a 5. táblázat mutatja be.

5. táblázat: Az LLoQ meghatározása különböző genotípusoknál, plazmában

Izolátum (genotípus)	EBV Quant						
	N	N kimutatva	Célkoncentráció (log NE/mL)	Assay (log NE/mL)	SD (log NE/mL)	Torzítás (log NE/mL)	
Raji (1-es genotípus)	3	3	2,56	2,84	0,12	0,3	
Akata (1-es genotípus)	3	3	2,56	2,95	0,11	0,4	
B95-8 (1-es genotípus)	3	3	2,56	2,59	0,08	0,1	
AG876 (2-es genotípus)	3	3	2,56	2,72	0,23	0,2	
P3H1 (2-es genotípus)	3	3	2,56	2,91	0,07	0,4	
Jijoye (2-es genotípus)	3	3	2,56	2,75	0,16	0,2	

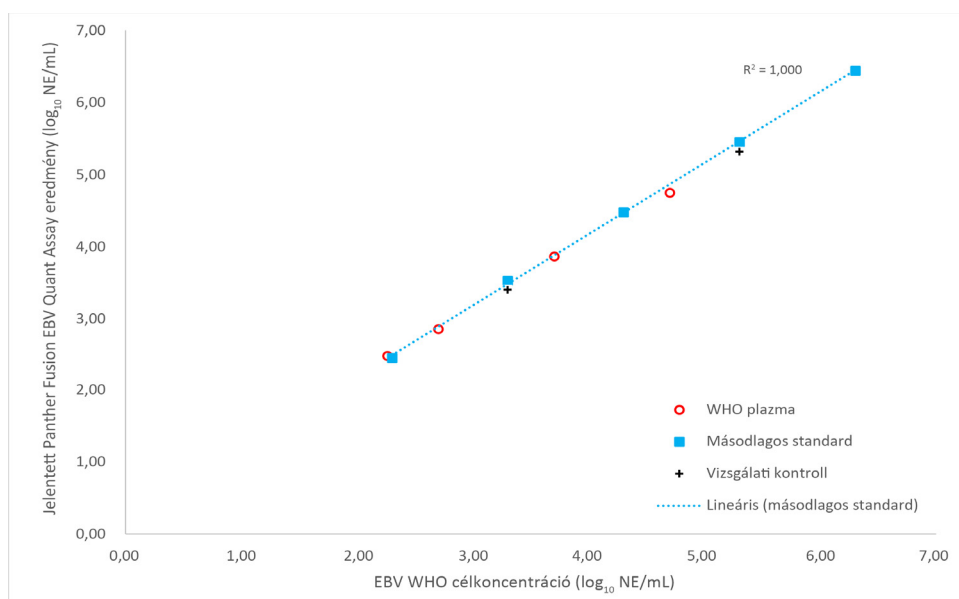
SD=szórás.

Visszavezethetőség az 1. WHO nemzetközi standardra

A termékfejlesztés és a termékgyártás során ismert koncentrációjú másodlagos szabványok sorozatát használták a WHO-szabványra való visszavezethetőség megállapítása érdekében. A WHO 1. EBV-szabványát a másodlagos szabványokkal, valamint a Panther Fusion EBV Quant vizsgálatban használt kontrollokkal és kalibrátorokkal együtt hígították és tesztelték a CLSI EP32-R szerinti visszavezethetőség értékelése céljából.¹⁰ A másodlagos szabványok koncentrációja 2,30 és 6,30 log₁₀ NE/mL között mozgott.

Visszavezethetőség a WHO-szabványra plazma használata mellett

Az 1. EBV WHO-standardra tesztelt koncentrációk 2,26 és 4,70 log₁₀ NE/mL között voltak. A WHO plazmapanelek, a másodlagos szabványok, a vizsgálati kontrollok és a vizsgálati kalibrátorok koncentrációját a vizsgálat lineáris tartományában a várt módon visszanyerték, lásd: 2. ábra.



2 ábra. A WHO 1. EBV-szabvány célkoncentrációi és a Panther Fusion EBV Quant vizsgálatban jelentett koncentrációk közötti visszavezethetőség (a WHO-szabvány plazmában hígítva)

Laboratóriumon belüli pontosság

A laboratóriumon belüli pontosság felmérése érdekében egy 2 tagú pozitív panelt készítettek EBV DNS hígításával EBV-negatív plazmában. A pozitív panel plazmamintákat 2 kezelő vizsgálta 3 reagenstétel felhasználásával 3 Panther Fusion rendszeren, 6 nem egymást követő tesztnapon. Minden egyes paneltagot minden futtatás során három ismételtsben vizsgálták. A eredményeket a CLSI EP-05-A3¹¹ ajánlásai szerint értékelték.

A 6. táblázat a pozitív panel vizsgálati eredményeinek reprodukálhatóságát mutatja (log NE/mL-ben) a különböző készülékek, kezelők, kazettatételek, futtatások és napok között, valamint a futtatásokon belül és összesítve.

6. táblázat: A Panther Fusion EBV Quant Assay reprodukálhatósága plazmamintákban

N	Átlagos koncentráció (log NE/mL)	Futtatások Lot (Tétel)	Készülékek között	Kezelők között	Futtatások között	Futtatások belül	Futtatásokon belül	Összesen
		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=szórás.

Potenciálisan zavaró anyagok

A Panther Fusion EBV Quant vizsgálat érzékenységét endogén anyagok, antikoagulánsok és transzplantált betegek számára gyakran felírt gyógyszerek emelkedett szintje által okozott interferenciára értékelték negatív plazma mátrixokban, 2,56 log NE/ml EBV jelenlétében vagy hiányában, plazmában. Az egyes interferenciát okozó anyagok vizsgálati koncentrációit a rendelkezésre álló szakirodalmi hivatkozások és a CLSI EP07¹² és EP37¹³ által nyújtott útmutatás alapján választották ki.

A 7. táblázatban felsorolt potenciálisan interferáló endogén anyagok jelenlétében a plazmamintákban nem figyeltek meg interferenciát a vizsgálattal végzett kvantifikálás pontosságában.

7. táblázat: Endogén anyagok

Potenciálisan zavaró anyag	Ismétlések száma	Vizsgált koncentráció
Albumin	3	375 mg/dL
Konjugált bilirubin	3	40 mg/dL
Hemoglobin	3	1000 mg/dL
Heparin	3	0,66 mg/dL
Humán genom DNS	3	0,2 mg/mL
Trigliceridek	3	3,45 mg/dL
Nem konjugált bilirubin	3	0,40 mg/dL

A 8. táblázatban felsorolt exogén anyagok jelenlétében nem figyeltek meg interferenciát a vizsgálattal végzett kvantifikálás pontosságában.

8. táblázat: Exogén anyagok

Potenciálisan zavaró anyag	Ismétlések száma	Vizsgált koncentráció
Aciklovir	3	6,6 mg/dL
Azatioprin	3	0,258 mg/dL
Cefotetan	3	71,1 mg/dL
Cidofovir	3	12,4 mg/dL
Klavulanát kálium	3	1,47 mg/mL
Ciklosporin	3	0,180 mg/dL
EDTA	3	0,099 mg/dL
Everolimus	3	0,0183 mg/dL
Flukonazol	3	2,55 mg/dL
Foscarnet	3	108 mg/dL
Ganciclovir	3	3,96 mg/dL
Letermovir	3	3,9 mg/dL
Micofenolát-mofetil	3	18,1 mg/dL
Mikofenolsav	3	18,1 mg/dL
Piperacillin	3	110 mg/dL
Prednizon	3	0,0099 mg/dL
Sirolimus	3	0,0213 mg/dL
Nátrium-citrát	3	3200 mg/dL
Szulfametoxazol	3	35,7 mg/dL
Tacrolimus	3	0,0144 mg/dL
Tazobaktám-nátrium	3	10,2 mg/dL
Tenofovir-dizoproxil-fumarát	3	0,0978 mg/dL
Ticarcillin-dinátrium	3	151 mg/dL
Trimethoprim	3	4,2 mg/dL
Valaciklovir	3	3,83 mg/dL
Valganciclovir	3	4,83 mg/dL
Vancomycin	3	12 mg/dL

Analitikai specifikitás

A 9. táblázatban felsorolt kórokozók okozta potenciális keresztreaktivitást EBV-negatív mátrixokban értékelték, 2,56 log NE/ml EBV jelenlétében vagy hiányában, plazmában. A kórokozókat az elérhető legmagasabb koncentrációban vizsgálták. Nem észleltek keresztreaktivitást vagy interferenciát a kvantitatív meghatározás pontosságában.

9. táblázat: Az analitikai specifikitás szempontjából vizsgált kórokozók

Mikroorganizmus/Kórokozó	Koncentráció	Mikroorganizmus/Kórokozó	Koncentráció
ADV-4	1.00E+04 TCID ₅₀ /mL	Humán parainfluenzavírus	1.00E+05 NE/mL
<i>Aspergillus niger</i>	1.00E+06 CFU/mL	Influenza A	1.00E+05 NE/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	Rhinovírus	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 NE/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.00E+06 CFU/mL
HCV	1.00E+04 NE/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.00E+06 CFU/mL
HIV-1	1.00E+05 NE/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.00E+06 CFU/mL
HPV-18 (HeLa sejteket megfertőzve)	1.00E+05 sejt/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.00E+06 CFU/mL
Humán herpeszvírus 6	1.00E+05 cp/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.00E+05 trophozoita/mL
Humán herpeszvírus 7	1.00E+03 TCID ₅₀ /mL	Varicella Zoster vírus	1.00E+05 cp/mL
Humán herpeszvírus 8	1.00E+05 TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1.00E+06 CFU/mL
Humán metapneumovírus	1.00E+03 NE/mL	Zika-vírus	1.00E+05 TCID ₅₀ /mL

CCU/ml = színváltó egység/ml.

CFU/mL= Telepképző egység milliliterenként.

cp/ml = kópia/ml.

IFU/mL= Zárványképző egység milliliterenként.

NE/mL= Nemzetközi egység milliliterenként.

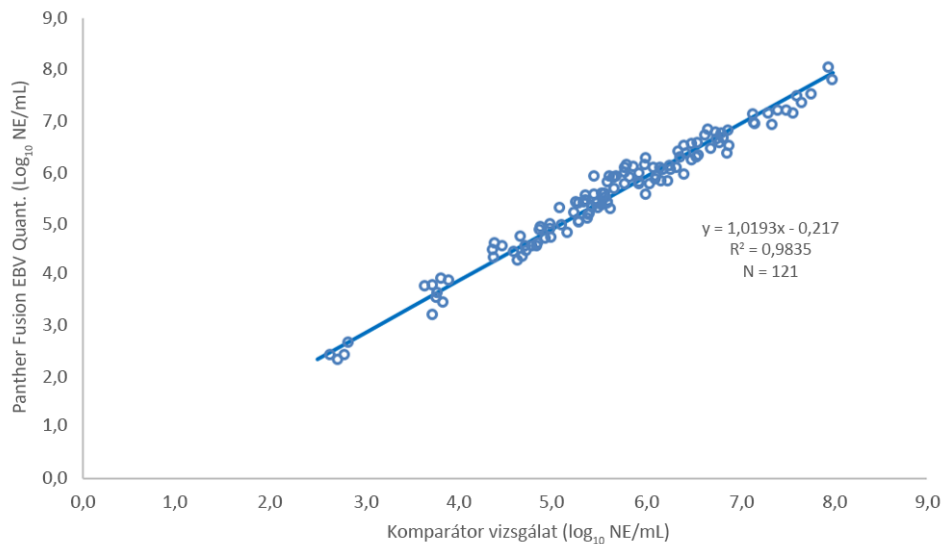
TCID₅₀/mL = szövettenyészet fertőző dózis egység milliliterenként

Módszer korreláció

Ezt a vizsgálatot a CLSI EP09c dokumentum iránymutatásainak megfelelően tervezték.¹⁴

Módszer korreláció plazmában

A Panther Fusion EBV Quant vizsgálat teljesítőképességét összehasonlító vizsgálattal szemben értékelték, retrospektív módon gyűjtött minták és a teljes lineáris tartományt lefedő mesterséges minták tesztelésével. A Deming-regresszióhoz összesen 121 vizsgálati mintát használtak fel a két vizsgálat közös lineáris tartományán belül, és 98,35%-os korrelációs együtthatót mutattak ki, lásd: 3. ábra.



3 ábra. A Panther Fusion EBV Quant Assay és a komparátor vizsgálat EBV-vírusterhelése közötti korreláció plazmaminták vizsgálatakor

Átvitel/keresztzennyeződés

Az átvitelt magas titerű, EBV-vel befecskendezett STM-minták ($1,5E + 09$ NE/ml) felhasználásával értékelték, amelyeket EBV-negatív minták közé helyeztek sakktáblamintázatban. A tesztelést öt futtatáson keresztül végezték. A teljes átviteli arány átlagosan 0,67% volt (1/150).

Irodalomjegyzék

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. 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.

Kapcsolatfelvételi információk és átdolgozási előzmények



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



Felelős személy az Egyesült Királyságban:
Hologic Ltd.
Oaks Business Park, Crewe Road
Wythenshawe, Manchester, M23 9HZ
Egyesült Királyság

Ausztrál megbízó:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park, NSW 2113

Az országspecifikus műszaki támogatás és ügyfélszolgálat e-mail-címéért és telefonszámáért látogasson el a www.hologic.com/support weboldalra.

A Hologic, az Aptima, a Panther, a Panther Fusion és az érintett logók a Hologic, Inc. vállalatnak és/vagy leányvállalatainak a védjegyei és/vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és/vagy más országokban.

A Quasar bejegyzett védjegy és a Biosearch Technologies, Inc. által engedélyezett.

A jelen használati utasításban megjelenő minden más védjegy a jogos tulajdonosok birtokában van.

Ezt a terméket egy vagy több, a www.hologic.com/patents oldalon felsorolt egyesült államokbeli szabadalom védheti.

©2022-2025 Hologic, Inc. Minden jog fenntartva.

AW-26019-2801 Rev. 002
2025-03

Felülvizsgálati előzmények	Dátum	Leírás
AW-26019 Rev. 003	2025. március	Ez a verzió megfelel az AW-26019-001 Rev. 003 verziónak. (This version aligns with AW-26019-001 Rev. 003.)