

Test BKV Quant Assay (Panther Fusion™)

Pour diagnostic *in vitro*

Réservé à l'exportation américaine

TABLE DES MATIÈRES

Informations générales	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principe de la procédure	2
Avertissements et précautions	4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs	6
Prélèvement, traitement et conservation des échantillons	7
Échantillons placés à bord du Panther Fusion System	8
Transport des échantillons	9
Panther Fusion System	10
Réactifs et matériels fournis	10
Matériels requis et disponibles séparément	11
Matériel facultatif	12
Procédure de test pour le Panther Fusion System	12
Remarques concernant la procédure	17
Contrôle de la qualité	18
Étalonnage du test	18
Contrôles négatifs et positifs	18
Contrôle interne	19
Interprétation des résultats	20
Limites	21
Performance	22
Limite de détection à l'aide du 1er étalon de référence international de l'OMS ...	22
Plage linéaire	23
Limite inférieure de quantification avec le 1er étalon de référence international de l'OMS ...	24
Confirmation de la limite inférieure de quantification pour tous les génotypes du virus BKV ...	26
Traçabilité au 1er étalon de référence international de l'OMS	27
Précision au sein du laboratoire	29
Substances potentiellement interférentes	29
Spécificité analytique	31
Corrélation de la méthode	33
Contamination transférée/croisée	34
Bibliographie	34
Informations de contact	35

Informations générales

Usage prévu

Le test Panther Fusion™ BKV Quant assay est un test d'amplification de l'acide nucléique *in vitro* par PCR en temps réel (RT-PCR) entièrement automatisé pour la quantification de l'ADN du virus BK (BKV) humain dans les échantillons de plasma et d'urine humains.

Le test Panther Fusion BKV Quant assay est prévu pour faciliter le diagnostic et la prise en charge des patients ayant fait l'objet d'une transplantation d'organes solides et d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques (greffe de moelle osseuse).

L'utilisation du test Panther Fusion BKV Quant assay n'est pas indiquée pour le dépistage du virus BKV dans le plasma ou l'urine. Ce test est conçu pour une utilisation sur le système Panther Fusion.

Résumé et explication du test

Le BKV est un petit virus non enveloppé très répandu, doté d'un génome d'ADN bicaténaire circulaire fermé. Le BKV est un polyomavirus humain de la famille des papovaviridae.

La primo exposition au BKV se produit dans l'enfance. De ce fait 80 à 90 % des adultes présentent des anticorps anti-BKV. La majorité des primo-infections au BKV sont asymptomatiques ou peu symptomatiques. Après une primo-infection, il semble que le virus reste latent dans les voies urinaires sans manifestation pathologique chez les personnes immunocompétentes.¹

Le virus est réactivé chez les sujets immunodéprimés, fréquemment chez les patients ayant fait l'objet d'une transplantation rénale ou d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques (HSCT, greffe de moelle osseuse). Chez les patients ayant fait l'objet d'une transplantation rénale, la réactivation du BKV est associée à une néphropathie à BKV (BKVN) et à une sténose urétérale ; Environ 5 % des patients ayant fait l'objet d'une transplantation rénale développent une néphropathie à BKV dans l'année suivant la greffe. La réactivation de la BKV est courante chez les patients ayant fait l'objet d'une greffe de moelle osseuse ; entre 6 % et 29 % des patients développent une cystite hémorragique d'apparition tardive dans les 2 mois suivant la transplantation.²

Les tests quantitatifs d'amplification de l'acide nucléique des échantillons de plasma ou d'urine constituent un marqueur biologique essentiel pour le diagnostic et la surveillance de l'infection au BKV chez les patients transplantés. Les directives récentes recommandent une surveillance régulière du taux d'ADN de BKV dans le plasma des patients ayant fait l'objet d'une transplantation rénale pour identifier les patients nécessitant un traitement préventif contre la néphropathie. Plus le taux d'ADN de BKV dans le plasma ou l'urine augmente, plus le risque de développer une néphropathie à BKV augmente. Cependant, le risque existe également chez les patients présentant des taux de BKV bas.^{3,4}

Principe de la procédure

Le système Panther Fusion automatise entièrement le traitement des échantillons, notamment la lyse des cellules, la capture de l'acide nucléique, l'amplification et la détection pour le test Panther Fusion BKV Quant assay. Le test Panther Fusion BKV Quant assay cible le gène VP2 hautement conservé pour garantir une quantification précise de l'ADN du virus BKV. Le test est standardisé sur le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS (code NIBSC : 14/212) pour le virus BKV.⁵

Traitement des échantillons et capture de l'acide nucléique : Un contrôle interne (IC-B) est automatiquement ajouté à chaque échantillon grâce au réactif-B de capture Fusion de travail (wFCR-X, working Fusion Capture Reagent-B). Il sert à détecter les interférences liées à un défaut de réactif ou à des substances inhibitrices, pendant le traitement des échantillons, l'amplification et la détection. Les échantillons sont d'abord ajoutés au réactif-B de capture Fusion (FCR-B) et au réactif-B activateur Fusion (FER-B) pour libérer l'acide nucléique et permettre l'hybridation aux particules magnétiques. Les particules de capture sont ensuite séparées de la matrice résiduelle de l'échantillon dans un champ magnétique, par une série de lavages avec un détergent doux. L'acide nucléique capturé est ensuite élué des particules magnétiques avec un réactif de faible force ionique (Tampon d'éluion Panther Fusion Elution Buffer).

Remarque : Le Panther Fusion System ajoute l'IC-B au FCR-B. Le FCR-B devient alors wFCR-B.

Amplification par PCR et détection de la fluorescence : Une dose de mélange principal PCR lyophilisé est reconstituée avec le tampon de reconstitution Panther Fusion I puis elle est combinée à l'acide nucléique élué dans un tube réactionnel. Le réactif huileux Panther Fusion est ajouté pour empêcher l'évaporation pendant la réaction PCR. L'amplification de la cible par PCR est ensuite réalisée avec des amorces sens et antisens spécifiques de la cible générant un signal de fluorescence.

Le système Panther Fusion fournit une valeur de Ct proportionnelle à la concentration en virus BKV dans les échantillons du test. La concentration de l'échantillon est calculée par le logiciel du Panther Fusion System grâce aux valeurs de Ct en BKV pour chaque réaction et en les comparant aux données d'étalonnage. Les résultats pour le virus BKV sont indiqués en UI/mL et \log_{10} UI/mL pour les échantillons de plasma et d'urine. Si le facteur de conversion de l'urine est sélectionné dans le logiciel Panther Fusion, un facteur de dilution de 2 est automatiquement appliqué aux résultats de charge virale en BKV pour tenir compte de l'étape de dilution pendant le traitement des échantillons d'urine.

Les cibles et les canaux utilisés pour leur détection sur le Panther Fusion System sont résumés dans le tableau ci-dessous :




Cible	Gène ciblé	Canal de l'appareil
BKV	VP2	ROX
Contrôle interne	Sans objet	Quasar 705

Avertissements et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro*.
- B. Réservé à un usage professionnel.
- C. Lire attentivement l'intégralité de la notice du test et le *Manuel de l'opérateur du Panther/ Panther Fusion System* avant de réaliser ce test.
- D. Le réactif Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) est corrosif, nocif en cas d'ingestion ; il provoque de graves brûlures cutanées et des lésions oculaires.
- E. Seul le personnel dûment formé à l'utilisation de ce test et à la manipulation de matériel potentiellement infectieux peut effectuer ces procédures. En cas de déversement, désinfecter immédiatement conformément aux procédures appropriées de l'établissement.
- F. Les échantillons peuvent présenter un risque infectieux. Respecter les précautions universelles pour réaliser ce test. Le responsable du laboratoire doit établir des procédures adaptées de manipulation et d'élimination des déchets. Seul le personnel formé à la manipulation des substances infectieuses doit être autorisé à effectuer cette procédure diagnostique.⁶
- G. Respecter les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas pipeter avec la bouche. Ne pas manger, boire, ni fumer dans les zones de travail signalées. Porter des gants jetables non poudrés, des lunettes de protection et une blouse de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs. Se laver soigneusement les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs.
- H. N'utiliser que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- I. Les plans de travail, les pipettes et les autres matériels doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium entre 2,5 % et 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
- J. Éliminer tout matériel ayant été en contact avec les échantillons et les réactifs conformément aux réglementations nationales, internationales et régionales.
- K. Maintenir des conditions de conservation appropriées pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.
- L. Éviter toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veiller particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols lors du débouchage ou de l'ouverture des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux extrêmement élevés de virus ou d'autres organismes. Veiller à éviter tout contact entre les différents tubes d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert pour éliminer du matériel usagé. Changer de gants en cas de contact avec les échantillons.
- M. Ne pas utiliser les réactifs, les calibrateurs ou les contrôles après leur date de péremption. Ne pas utiliser le tube de transport d'échantillon d'urine Aptima™ après sa date de péremption.
- N. Conserver les composants du test en respectant les conditions de stockage recommandées. Voir *Conditions de conservation et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le Panther Fusion System* pour des informations plus détaillées.
- O. Ne pas mélanger les réactifs de test ou les liquides. Ne pas compléter les niveaux de réactifs ou de fluides ; le Panther Fusion System vérifie les niveaux des réactifs.

- P. Veiller à éviter de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- Q. Les contrôles de la qualité doivent être effectués conformément aux réglementations locales et nationales ou aux exigences d'accréditation et aux procédures de contrôle de la qualité classiques du laboratoire.
- R. Ne pas utiliser la cartouche de test si le sachet de stockage n'est plus étanche ou si le film de la cartouche de test n'est pas intact. Dans ces cas, contacter le service technique de Hologic.
- S. Ne pas utiliser les packs de liquides si l'opercule n'est pas intact. Dans ce cas, contacter le service technique de Hologic.
- T. Manipuler les cartouches de test avec précaution. Ne pas laisser tomber ni inverser les cartouches de test. Éviter l'exposition prolongée à la lumière ambiante.
- U. Certains réactifs de ce kit sont étiquetés avec des symboles de risque et de sécurité.

Remarque : La signalisation des risques reflète les classifications des fiches de données de sécurité (FDS) de l'UE. Pour obtenir des informations sur les mentions de risques spécifiques à la région, consulter la FDS spécifique à la région dans la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches de données de sécurité) à l'adresse www.hologicsds.com. Pour plus d'informations sur les symboles, reportez-vous à la légende des symboles à l'adresse www.hologic.com/package-inserts.

Informations sur les dangers pour l'UE	
	<p>Cartouche Panther Fusion BKV Quant Assay Cartridge <i>Alpha-cyclodextrin 20-25 %</i></p> <p>— —</p> <p>H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme P273 - Éviter le rejet dans l'environnement P280 - Porter un équipement de protection des yeux/du visage</p>
	<p>Huile Panther Fusion Oil <i>Polydimethylsiloxane 100 %</i></p> <p>Attention H315 - Provoque une irritation cutanée H319 - Provoque une sévère irritation des yeux</p>
 	<p>Réactif Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10 %</i></p> <p>Danger H302 - Nocif en cas d'ingestion H314 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves P260 - Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage P303 + P361 + P353 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer P310 - Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin P280 - Porter un équipement de protection des yeux/du visage</p>

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

A. Le tableau suivant présente les exigences de conservation et de manipulation pour ce test.

Réactif	Conservation non ouvert	À bord/ Stabilité après ouverture ¹	Conservation après ouverture
Cartouche Panther Fusion BKV Quant Assay Cartridge	2 °C à 8 °C	60 jours	2 °C à 8 °C ²
Réactif Panther Fusion Capture Reagent-B (FCR-B)	15 °C à 30 °C	30 jours	15 °C à 30 °C
Réactif Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B)	15 °C à 30 °C	30 jours	15 °C à 30 °C
Contrôle-B interne Panther Fusion Internal Control-B (IC-B)	2 °C à 8 °C	(Dans le wFCR-B)	Sans objet
Tampon d'éluion Panther Fusion Elution Buffer	15 °C à 30 °C	60 jours	15 °C à 30 °C
Huile Panther Fusion Oil	15 °C à 30 °C	60 jours	15 °C à 30 °C
Tampon I de reconstitution Panther Fusion Reconstitution Buffer I	15 °C à 30 °C	60 jours	15 °C à 30 °C
Calibrateurs Panther Fusion BKV Quant Calibrators (1-5)	-15 °C à -35 °C	Flacon à usage unique	Non applicable - À usage unique
Contrôle positif fort Panther Fusion EBV–BKV Quant High Positive Control	-15 °C à -35 °C	Flacon à usage unique	Non applicable - À usage unique
Contrôle positif faible Panther Fusion EBV–BKV Quant Low Positive Control	-15 °C à -35 °C	Flacon à usage unique	Non applicable - À usage unique
Contrôle négatif de transplantation (III) Panther Fusion Transplant Negative Control (III)	-15 °C à -35 °C	Flacon à usage unique	Non applicable - À usage unique

Remettre immédiatement les réactifs à la bonne température de conservation dès leur retrait du Panther Fusion System.

¹ La stabilité à bord commence lorsque le réactif est installé sur le Panther Fusion System pour la cartouche du test Panther Fusion BKV Quant assay, le FCR-B, le FER-B et l'IC-B. La stabilité à bord commence à la première utilisation du réactif pour le tampon de reconstitution I Panther Fusion, le tampon d'éluion Panther Fusion et le réactif huileux Panther Fusion.

² Si la cartouche de test est enlevée du Panther Fusion System, la conserver dans un récipient hermétique avec dessiccateur, à la température de stockage recommandée.

- B. Le réactif-B de capture Panther Fusion de travail (wFCR-B) et le réactif-B activateur Panther Fusion (FER-B) sont stables pendant 60 jours lorsqu'ils sont conservés bouchés entre 15 °C et 30 °C. Ne pas réfrigérer.
- C. Jeter tout réactif inutilisé qui a dépassé sa durée de stabilité.
- D. Éviter toute contamination croisée pendant la manipulation et le stockage des réactifs.
- E. **Ne pas congeler les réactifs.**
- F. **Ne pas congeler les contrôles ni les calibrateurs.**

Prélèvement, traitement et conservation des échantillons

Spécimens : matériel clinique prélevé sur un patient et placé dans un système de transport approprié. Pour le test Panther Fusion BKV Quant assay, ceci comprend les échantillons d'urine prélevés dans des récipients primaires, les échantillons de plasma prélevés dans des tubes contenant des anticoagulants EDTA ou des tubes de préparation du plasma (PPT).

Échantillons : terme plus générique définissant tout matériel à tester sur le Panther Fusion System, notamment les spécimens, les échantillons traités transférés dans un tube de transport d'échantillon d'urine Aptima, les calibrateurs et les contrôles.

Remarque : *Manipuler tout échantillon comme potentiellement infectieux. Respecter les précautions universelles.*

Remarque : *Éviter toute contamination croisée pendant les étapes de manipulation des spécimens. Par exemple, veiller à ne pas passer au-dessus de tubes ouverts lors de l'élimination de matériels usagés.*

Remarque : *Seuls des tubes secondaires en plastique sont recommandés pour le stockage des échantillons.*

A. Prélèvement d'échantillon

1. Les échantillons de sang total prélevés dans les tubes en verre ou en plastique suivants peuvent être utilisés pour préparer le plasma :
 - Tubes contenant de l'anticoagulant EDTA
 - Tubes de préparation du plasma (PPT)
2. Les échantillons d'urine doivent être prélevés dans un pot de collecte.
 - a. Après le prélèvement, les échantillons d'urine du récipient de prélèvement primaire doivent être transférés dans l'heure, à 30 °C, dans le tube de transport d'échantillons d'urine d'Aptima.
 - b. Avant de tester les échantillons d'urine, l'urine du pot de collecte primaire doit être soigneusement mélangée par inversion avant son transfert dans le tube de transport d'échantillons d'urine d'Aptima contenant le milieu de transport d'urine.

B. Traitement des échantillons

1. Traitement des échantillons de plasma : Le sang total peut être entreposé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 24 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Le plasma peut être préparé à partir de tubes primaires EDTA ou PPT. Séparer le plasma du culot de globules rouges en respectant les instructions du fabricant du tube utilisé. Le plasma peut être analysé sur le Panther Fusion System directement dans un tube primaire ou transféré dans un tube secondaire comme le tube d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT).

Pour garantir un volume d'échantillon suffisant, consulter le tableau suivant :

Tableau 1: Volume minimal d'échantillon

Tube (taille et type)	Volume minimal pour 1 réplicat
Tube d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT)	0,6 mL
12 x 75 mm	0,9 mL
13 x 100 mm	0,9 mL
13 x 100 mm avec gel	0,7 mL
16 x 100 mm avec gel	1,1 mL

Si le plasma n'est pas analysé immédiatement, il peut être conservé conformément aux *Conditions de conservation des échantillons*.

S'il a été transféré dans un tube secondaire, le plasma peut être congelé à -20 °C ou -70 °C.

Ne pas congeler les échantillons de plasma dans des tubes de prélèvement primaires EDTA.

2. Traitement des échantillons d'urine :

- Transférez 2 000 µL d'urine dans l'heure, à 30 °C, dans des tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima avant de la tester sur le Panther Fusion System (voir *Manipulation des échantillons d'urine* pour la manipulation des échantillons).
- Remplacez le bouchon et mélangez délicatement l'échantillon au vortex pendant au moins 5 secondes.

C. Conditions de conservation des échantillons

Les échantillons peuvent être stockés dans l'une des conditions suivantes :

1. Stabilité du plasma

- Les échantillons non traités sont stables pendant 24 heures entre 2 °C et 30 °C après centrifugation.
- Les échantillons non traités sont stables pendant 5 jours entre 2 °C et 8 °C après centrifugation.
- Les échantillons non traités et traités sont stables pendant 60 jours à -20 °C ou à -70 °C après centrifugation.
- Les échantillons congelés sont également stables pendant 3 cycles de congélation/décongélation.

2. Stabilité des échantillons d'urine

- Les échantillons non traités sont stables pendant 6 heures entre 2 °C et 8 °C.
- Les échantillons traités sont stables pendant 24 heures entre 2 °C et 30 °C.
- Les échantillons traités sont stables pendant 5 jours entre 2 °C et 8 °C.
- Les échantillons traités sont stables pendant 60 jours à -20 °C ou -70 °C.
- Les échantillons congelés sont également stables pendant 3 cycles de congélation/décongélation.

Échantillons placés à bord du Panther Fusion System

Les échantillons de plasma et d'urine analysés peuvent être laissés sans bouchon à bord du Panther Fusion System pendant maximum 8 heures. Les échantillons peuvent être retirés du Panther Fusion System puis analysés tant que la durée totale à bord n'excède pas 8 heures avant le pipetage de l'échantillon par le Panther Fusion System.

Transport des échantillons

Maintenir les conditions de stockage des échantillons pendant le transport, comme indiqué dans la section *Prélèvement, traitement et conservation des échantillons*.

Remarque : *L'expédition des échantillons doit s'effectuer conformément aux réglementations locales, nationales et internationales en vigueur en matière de transport.*

Panther Fusion System

Le Panther Fusion System est un système de test de l'acide nucléique intégré permettant d'automatiser toutes les étapes de réalisation des tests Panther Fusion : le traitement de l'échantillon, l'amplification, la détection et la réduction des données.

Réactifs et matériels fournis

Emballage du test

Composants	Pièce n°.	Stockage
Calibrateurs Panther Fusion BKV Quant Assay Calibrators PCAL 1 qBKV, 3 par boîte PCAL 2 qBKV, 3 par boîte PCAL 3 qBKV, 3 par boîte PCAL 4 qBKV, 3 par boîte PCAL 5 qBKV, 3 par boîte	PRD-07234	-15 °C à -35 °C
Contrôles Panther Fusion EBV–BKV Quant Assay Controls Tube de contrôle positif élevé HPC, 5 par boîte Tube de contrôle positif faible LPC, 5 par boîte Tube de contrôle négatif de transplantation NC III, 5 par boîte	PRD-07158	-15 °C à -35 °C
Cartouche Panther Fusion BKV Quant Assay Cartridge pour 96 tests Cartouche de test Panther Fusion qBKV Assay, 12 tests, 8 par boîte	PRD-07232	2 °C à 8 °C
Contrôle interne Panther Fusion Internal Control-B pour 960 tests Tube de Contrôle-B interne Panther Fusion, 4 par boîte	PRD-06234	2 °C à 8 °C
Réactif Panther Fusion Extraction Reagent-B 960 Tests Flacon de Capture Reagent-B Panther Fusion, 240 tests, 4 par boîte Flacon d'Enhancer Reagent-B Panther Fusion, 240 tests, 4 par boîte	PRD-06232	15 °C à 30 °C
Tampon d'éluion Panther Fusion Elution Buffer 2 400 Tests Pack d'Elution Buffer Panther Fusion, 1 200 tests, 2 par boîte	PRD-04334	15 °C à 30 °C
Tampon de reconstitution I Panther Fusion Reconstitution Buffer I 1 920 Tests Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 960 tests, 2 par boîte	PRD-04333	15 °C à 30 °C
Réactif huileux Panther Fusion Oil Reagent 1 920 Tests Panther Fusion Oil Reagent, 960 tests, 2 par boîte	PRD-04335	15 °C à 30 °C

Matériels requis et disponibles séparément

Remarque : Le matériel disponible chez Hologic est référencé, sauf indication contraire.

Matériel	Réf.
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ Module	PRD-04173
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System, Liquides et déchets en continu (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de liquides de test Aptima™ (Solution de lavage Atima™, tampon pour solution de désactivation Aptima™ et réactif huileux Aptima™)	303014 (1000 tests)
Unités multi-tube (Multi-tube units, MTU)	104772-02
Assortiment de sacs pour déchets Panther™	902731
Couvre-déchets Panther™	504405
Ou kit d'analyse pour le Panther™ System contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvre-déchets, des liquides pour tests et les auto detects*	303096 (5 000 tests)
Embouts, 1 000 µL, avec filtre, détection de liquide, conducteurs et jetables : <i>Les produits ne sont pas tous disponibles dans toutes les régions. Contacter le représentant pour obtenir des informations spécifiques à la région.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Plateaux de tubes Panther Fusion™, 1 008 tests, 18 plateaux par boîte	PRD-04000
Tubes de transport d'échantillon d'urine Aptima™ uniquement pour le traitement des échantillons d'urine	105575 (100 tubes pré-remplis par sachet)
Bouchons pleins Hologic de rechange (bouchon de tube à usage unique)	PRD-06720 (100 bouchons par sachet)
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium de 5 % à 8,25 % (0,7 M à 1,16 M)	—
Gants non poudrés jetables	—
Protection de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—
Choix de tube de prélèvement primaire (EDTA et PPT) : 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
Centrifugeuse	—
Mélangeur de type vortex	—

*Nécessaire uniquement pour les tests Panther Aptima TMA.

Matériel facultatif

Matériel	Réf. cat.
Dimensions possibles des tubes secondaires :	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tubes d'aliquote d'échantillon Aptima™ (SAT) (100/paquet)	FAB-18184
Bouchon pour tube de transport (100/paquet) <i>bouchon pour tube SAT</i>	504415
Diluant d'échantillon Aptima™	PRD-03003
Kit de diluant d'échantillon Aptima™ <i>contient le diluant d'échantillon Aptima, 100 SAT et 100 bouchons</i>	PRD-03478
Pipettes de transfert	—
Agitateur de tubes	—

Procédure de test pour le Panther Fusion System

Remarque : Consulter le Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System pour plus d'informations sur la procédure.

A. Préparation de la zone de travail

1. Essuyer les plans de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium en contact avec les surfaces pendant au moins 1 minute et rincer avec de l'eau désionisée. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrir la surface de travail avec des protections propres pour paillasse de laboratoire absorbantes, à envers plastifié.
2. Nettoyer un plan de travail distinct sur lequel les échantillons seront préparés. Suivre la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).
3. Nettoyer tous les pipeteurs. Suivre la procédure de nettoyage décrite ci-dessus (étape A.1).

B. Préparation des calibrateurs et des contrôles

Amener les calibrateurs et les contrôles entre 15 °C et 30 °C avant de procéder comme suit :

1. Retirer les calibrateurs et les contrôles de leur lieu de conservation (entre -15 °C et -35 °C) et les placer entre 15 °C et 30 °C. Tout au long de la décongélation, retourner délicatement chaque tube pour le mélanger complètement. Vérifier que le contenu du tube est complètement décongelé avant de l'utiliser.

Option. Les tubes de calibrateur et de contrôle peuvent être soigneusement mélangés dans un agitateur de tubes. Vérifier que le contenu du tube est complètement décongelé avant de l'utiliser.

Remarque : Éviter la formation excessive de mousse en mélangeant par inversion les calibrateurs et les contrôles. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther Fusion System.

2. Une fois le contenu des tubes décongelé, sécher l'extérieur des tubes avec un chiffon jetable propre et sec.

3. Pour éviter toute contamination, ne pas ouvrir les tubes à ce moment.

C. Préparation des réactifs

1. Retirer les flacons d'IC-B, de FCR-B et de FER-B de leur lieu de stockage.
2. Mélanger le FCR-B jusqu'à ce que les billes soient complètement en suspension. Éviter la formation de mousse pendant cette étape.
3. Ouvrir les flacons d'IC-B, de FCR-B et de FER-B et jeter les bouchons. Ouvrir la porte des TCR du compartiment supérieur du Panther Fusion System.
4. Placer les flacons d'IC-B, de FCR-B et de FER-B dans les positions correspondantes sur le carrousel de TCR.
5. Fermer la porte de TCR.

Remarque : Le Panther Fusion System ajoute l'IC-B au FCR-B. Après cela, le FCR-B est appelé wFCR-S (FCR-S de travail). Si le wFCR-B et le FER-B sont retirés du système, utiliser de nouveaux bouchons et les replacer immédiatement dans les conditions de stockage recommandées.

D. Manipulation des échantillons

Remarque : Préparer les échantillons conformément aux instructions de la section *Prélèvement, traitement et conservation des échantillons avant de les charger sur le Panther Fusion System.*

Inspecter les tubes d'échantillon avant de les charger sur le portoir. Si un tube d'échantillon contient des bulles ou si son volume est inférieur à celui généralement observé, tapoter délicatement le fond du tube pour amener le contenu vers le fond.

E. Manipulation des échantillons de plasma

1. Vérifier que les échantillons analysés dans les tubes primaires ou les échantillons non dilués dans des tubes secondaires ont été conservés de manière appropriée, conformément à la section *Prélèvement, traitement et conservation des échantillons.*
2. Vérifier que les échantillons congelés soient entièrement décongelés. Agiter les échantillons décongelés au vortex pendant 3 à 5 secondes pour les mélanger complètement.
3. Laisser tous les échantillons atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de les analyser. Pour plus d'informations, consulter la section *Échantillons placés à bord du Panther Fusion System.*
4. Vérifier que chaque tube primaire ou secondaire contient le bon échantillon. Consulter le Tableau 1 pour connaître le volume d'échantillon minimal pour 1 réplicat.
5. Juste avant de charger les échantillons dans un portoir d'échantillons, centrifuger chaque échantillon entre 1 000 et 3 000 g pendant 10 minutes. Ne pas retirer les bouchons à cette étape.

Voir l'étape G.2 ci-dessous pour les informations sur le chargement du portoir et le retrait des bouchons.

F. Manipulation des échantillons d'urine

1. Vérifier que les échantillons des tubes primaires ou les échantillons traités des tubes de transport d'échantillon d'urine ont été conservés de manière appropriée, conformément à la section *Prélèvement, traitement et conservation des échantillons.*
2. Vérifier que les échantillons congelés dans les tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima sont complètement décongelés.

3. Laisser tous les échantillons atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de les tester sur le Panther Fusion System. Pour plus d'informations, consulter la section *Échantillons placés à bord du Panther Fusion System*.

Remarque : Éviter de charger des échantillons contenant des précipités sur le Panther Fusion System.

4. Retourner délicatement les tubes de transport d'échantillon d'urine au moins 3 fois, ou mélanger délicatement sur un agitateur, jusqu'à ce que l'urine soit homogène.

Remarque : Éviter la formation excessive de mousse lors de l'inversion ou du mélange des tubes. La mousse risque d'interférer avec le détecteur de niveau du Panther Fusion System.

Voir l'étape G.2 ci-dessous pour les informations sur le chargement du portoir et le retrait des bouchons.

G. Préparation du système

1. Pour obtenir des instructions sur la configuration du Panther Fusion System, notamment le chargement des échantillons, des réactifs, des cartouches de test et des liquides universels, consulter le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System* et les *Remarques concernant la procédure*.
2. Charger les échantillons dans le portoir d'échantillons. Effectuer les étapes suivantes pour chaque tube d'échantillon (échantillon et, si nécessaire, calibrateurs et contrôles) :
 - a. Desserrer le bouchon de l'un des tubes d'échantillon, sans l'enlever.

Remarque : Éviter particulièrement toute contamination par diffusion d'aérosols. Desserrer délicatement les bouchons des échantillons.

- b. Charger le tube d'échantillon dans le portoir d'échantillons.
- c. Répéter les étapes 2.a et 2.b pour chaque échantillon restant.
- d. Une fois les échantillons chargés dans le portoir d'échantillons, enlever et jeter le bouchon de chaque tube d'échantillon dans l'un des portoirs d'échantillons. Pour éviter toute contamination, ne pas passer les bouchons au-dessus d'autres portoirs d'échantillons ou tubes d'échantillons.
- e. Utiliser une pipette de transfert jetable neuve pour éliminer les bulles ou la mousse, si nécessaire. La présence de bulles dans le tube empêche la détection du niveau par le Panther Fusion System.
- f. Une fois le dernier bouchon retiré, charger le portoir d'échantillons dans le compartiment des échantillons.

Remarque : Si d'autres tests et types d'échantillons sont analysés en même temps, fixer le dispositif de rétention des échantillons avant de charger le portoir d'échantillons dans le compartiment des échantillons.

- g. Répéter les étapes 2.a à 2.f pour le portoir d'échantillons suivant.

H. Préparation du système : Application du facteur de conversion pour échantillon d'urine

1. Configurer le système conformément aux instructions du *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System*.
2. Charger le portoir d'échantillons.

3. Appliquer le facteur de conversion de l'urine aux commandes de test pour les échantillons d'urine.

Remarque : Le facteur de conversion de l'urine peut être appliqué à un portoir entier ou à une seule commande de test.

Pour appliquer le facteur de conversion de l'urine à un portoir entier d'échantillons d'urine :

- a. Dans l'écran *Sample Rack Bay (Compartiment du portoir d'échantillons)*, double-cliquer sur le portoir chargé concerné. L'écran *Sample Rack Loading (Chargement du portoir d'échantillons)* s'affiche pour le portoir sélectionné.
- b. Sélectionner **Dilute All (Tout diluer)**.

La fenêtre *Dilution Factor (Facteur de dilution)* s'affiche (Figure 1).

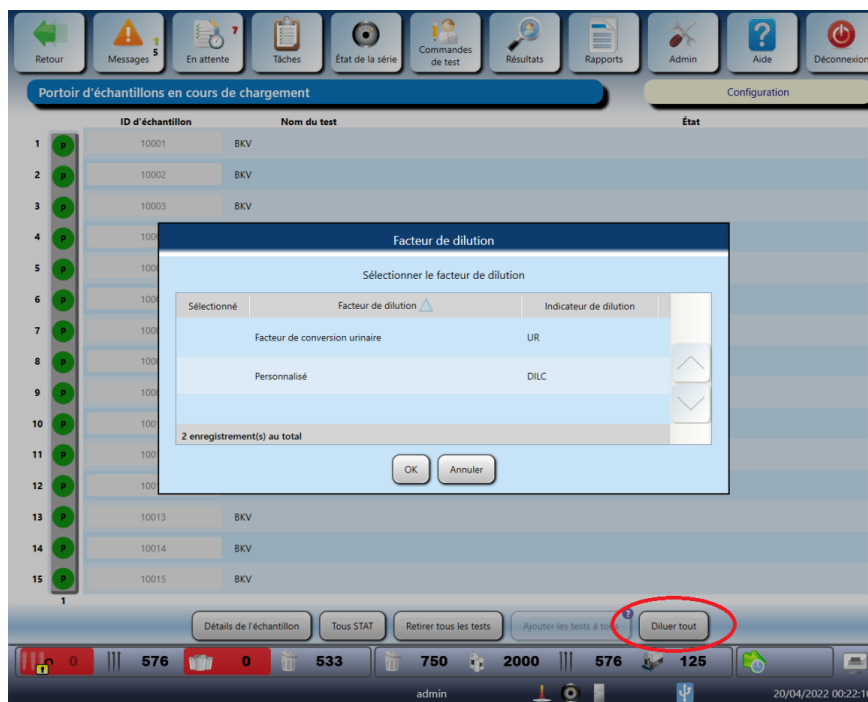


Figure 1. Fenêtre Dilution Factor (Facteur de dilution) de l'écran Sample Rack Loading (Chargement du portoir d'échantillons) (Exemple)

- c. Sélectionner **Urine Conversion Factor (facteur de conversion de l'urine)**.
- d. Sélectionner **OK**.

La fenêtre *Set Dilution Factor for Rack (Définir le facteur de dilution pour le portoir)* s'affiche.

- e. Sélectionner **Yes (Oui)** pour appliquer l'indicateur Facteur de conversion de l'urine au portoir entier d'échantillons d'urine.

Pour appliquer le facteur de conversion de l'urine à une seule commande de test (Figure 2) :

- a. Dans l'écran *Sample Rack Bay (Compartiment du portoir d'échantillons)*, double-cliquer sur le portoir chargé contenant les échantillons d'intérêt.

L'écran *Sample Rack Loading (Chargement du portoir d'échantillons)* s'affiche pour le portoir d'échantillons sélectionné.

- b. Double-cliquer sur l'échantillon d'intérêt dans l'écran *Sample Rack Loading (Chargement du portoir d'échantillons)*.

L'écran *Sample Details (Détails de l'échantillon)* s'affiche et présente les commandes de test actuelles pour l'échantillon sélectionné.

- c. Sélectionner la commande de test d'intérêt dans le panneau *Test Orders (Commandes de test)*.
- d. Sélectionner **Apply Dilution (Appliquer la dilution)**.

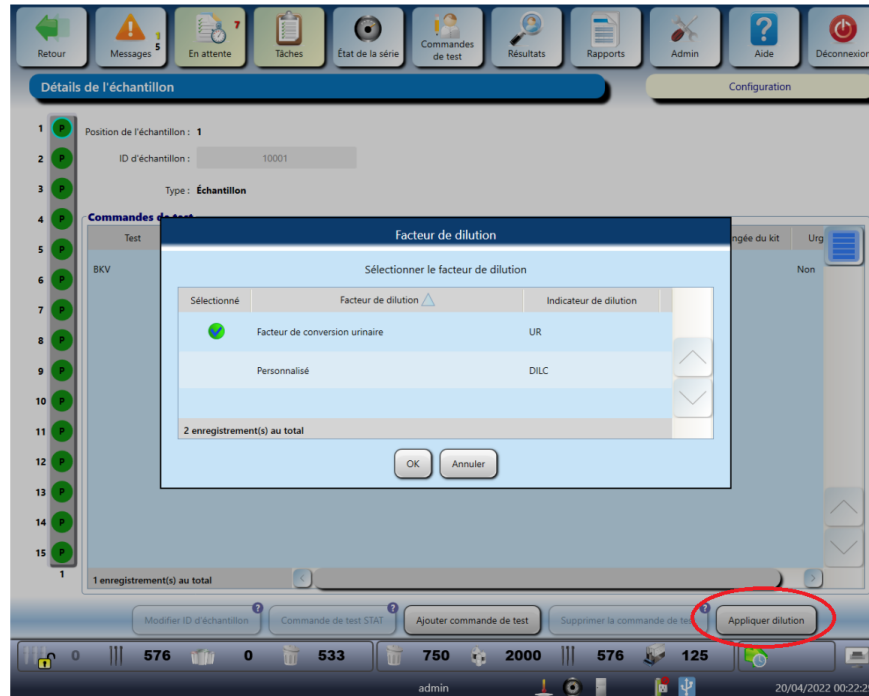


Figure 2. Fenêtre Dilution Factor (Facteur de dilution) de l'écran Sample détails (Détails de l'échantillon) (Exemple)

- e. Sélectionner **Urine Conversion Factor (facteur de conversion de l'urine)**.
 - f. Sélectionner **OK** pour appliquer l'indicateur Facteur de conversion de l'urine à toutes les commandes de test sélectionnées.
4. Le facteur de conversion de l'urine peut être supprimé des commandes de test avant le début de l'analyse, si nécessaire.

Pour supprimer le facteur de conversion de l'urine d'un portoir entier :

- a. Dans l'écran *Sample Rack Bay (Compartment du portoir d'échantillons)*, double-cliquer sur le portoir chargé concerné.

L'écran *Sample Rack Loading (Chargement du portoir d'échantillons)* s'affiche pour le portoir sélectionné.

- b. Sélectionner **Dilute All (Tout diluer)**.
- c. Dans la fenêtre *Dilution Factor (Facteur de Dilution)*, désélectionner **Urine Conversion Factor (Facteur de conversion de l'urine)**.
- d. Sélectionner **OK**.

La fenêtre *Set Dilution Factor for Rack (Définir le facteur de dilution pour le portoir)* s'affiche.

- e. Sélectionner **Yes (Oui)** pour supprimer le facteur de conversion de l'urine d'un portoir entier.

Pour supprimer le facteur de conversion de l'urine des commandes de test distinctes :

- a. Dans l'écran *Sample Rack Bay (Compartiment du portoir d'échantillons)*, double-cliquer sur le portoir chargé contenant les échantillons d'intérêt.

L'écran *Sample Rack Loading (Chargement du portoir d'échantillons)* s'affiche pour le portoir d'échantillons sélectionné.

- b. Double-cliquer sur l'échantillon d'intérêt dans l'écran *Sample Rack Loading (Chargement du portoir d'échantillons)*.

L'écran *Sample Details (Détails de l'échantillon)* s'affiche et présente les commandes de test actuelles pour l'échantillon sélectionné.

- c. Sélectionner la commande de test d'intérêt dans le panneau *Test Orders (Commandes de test)*.
- d. Sélectionner **Apply Dilution (Appliquer la dilution)**.
- e. Dans la fenêtre *Dilution Factor (Facteur de Dilution)*, désélectionner **Urine Conversion Factor (Facteur de conversion de l'urine)**.
- f. Sélectionner **OK** pour supprimer le facteur de conversion de l'urine de la demande de test.

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateurs et contrôles

1. Les calibrateurs qBKV (5 tubes), les tubes de contrôle positif faible EBV–BKV (LPC), de contrôle positif fort EBV–BKV (HPC) et de contrôle négatif de transplantation (NC III) peuvent être chargés dans n'importe quelle position du portoir d'échantillons et dans n'importe quelle rangée du compartiment d'échantillons du Panther Fusion System. Le pipetage du calibrateur et du contrôle commence lorsque les échantillons de BKV ont été chargés dans le système. Le pipetage des échantillons commence lorsque l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
 - a. Les calibrateurs et les contrôles sont en cours de traitement par le système.
 - b. Les résultats valides des calibrateurs et des contrôles sont enregistrés sur le système.
2. Après le pipetage et le traitement des tubes de calibrateur et de contrôle pour le test Panther Fusion BKV Quant assay, les échantillons peuvent être testés. Les résultats de l'étalonnage sont valides pendant 60 jours et les résultats du contrôle sont valides pendant 30 jours maximum (fréquence configurée par un administrateur) **sauf si** :
 - a. les résultats du calibrateur sont non valides ;
 - b. les résultats du contrôle sont non valides.
 - c. L'opérateur demande au logiciel du Panther Fusion System d'analyser de nouveaux contrôles ou calibrateurs.
3. Un étalonnage est requis pour chaque nouveau lot de cartouche de test chargé sur le Panther Fusion System avant son utilisation pour le traitement des échantillons.
4. Chaque tube de calibrateur et de contrôle ne peut être utilisé qu'une seule fois.

Contrôle de la qualité

Étalonnage du test

Pour obtenir des résultats valides, l'étalonnage du test doit être réalisé. Les cinq calibrateurs positifs sont analysés en triplica chaque fois qu'un nouveau lot de cartouche de test est chargé sur le Panther Fusion system. Une fois établi, l'étalonnage du test est valide pour un maximum de 60 jours. Le logiciel du Panther Fusion system avertit l'opérateur lorsqu'un étalonnage est requis.

Pendant le traitement, le logiciel Panther Fusion vérifie automatiquement la validité de la courbe d'étalonnage. Si l'étalonnage échoue aux vérifications de validité, le Panther Fusion System invalide automatiquement les échantillons concernés et requiert l'analyse d'un nouveau jeu de calibrateurs de test avant le pipetage de tout nouvel échantillon.

Par défaut, le test traite les échantillons comme du plasma non dilué. Pour traiter des échantillons d'urine, la dilution du facteur de conversion de l'urine doit être sélectionnée dans l'interface utilisateur de l'appareil.

Contrôles négatifs et positifs

Pour obtenir des résultats valides, un jeu de contrôles de test doit être analysé. Un réplicat du NC III (contrôle négatif de transplantation), du LPC (contrôle positif faible) et du HPC (contrôle positif fort) doit être testé chaque fois qu'un nouveau lot de cartouches de test est chargé sur le Panther Fusion System ou si le jeu de contrôles valides en cours d'utilisation pour un lot de cartouche active a expiré.

Le Panther Fusion System est configuré pour nécessiter une analyse des contrôles de test à un intervalle fixé par l'administrateur à 30 jours maximum. Le logiciel du Panther Fusion System avertit l'opérateur lorsque des contrôles de test sont nécessaires et ne démarre pas de nouveaux tests jusqu'à ce que les contrôles de test aient été chargés et aient commencé à être traités.

Le Panther Fusion System vérifie automatiquement les critères d'acceptation des contrôles du test lors du traitement. Pour obtenir des résultats valides, les contrôles de test doivent réussir une série de vérifications de leur validité effectuée par le Panther Fusion System.

Si les contrôles de test remplissent toutes les vérifications de validité, ils sont considérés comme valides pour la durée spécifiée par l'administrateur. Lorsque la durée est écoulée, le Panther Fusion System considère les contrôles de test comme expirés et un nouveau jeu de contrôles de test est requis avant le pipetage de tout autre échantillon.

Si l'un des contrôles de test échoue aux vérifications de validité, le Panther Fusion System invalide automatiquement les échantillons concernés et requiert l'analyse d'un nouveau jeu de contrôles de test avant le pipetage de tout nouvel échantillon.

Contrôle interne

Un contrôle interne est ajouté à chaque échantillon au cours du processus d'extraction. Le logiciel du Panther Fusion System vérifie automatiquement les critères d'acceptation du contrôle interne lors du traitement. La détection du contrôle interne n'est pas nécessaire pour les échantillons positifs au virus BKV. Le contrôle interne doit être détecté dans tous les échantillons négatifs au virus BKV ; les échantillons qui ne respectent pas ce critère seront signalés comme non valides. Chaque échantillon dont le résultat est non valide doit être analysé à nouveau.

Le logiciel du Panther Fusion System est conçu pour vérifier avec précision les processus lorsque les procédures sont effectuées conformément aux instructions de cette notice et du *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System*.

Interprétation des résultats

Le Panther Fusion System détermine automatiquement la concentration en ADN du virus BKV dans les échantillons et les contrôles en comparant les résultats à une courbe d'étalonnage. Les concentrations en ADN du virus BKV sont présentées en UI/mL et en \log_{10} UI/mL. L'interprétation des résultats est présentée dans les Tableau 2 et Tableau 3.

Tableau 2: Interprétation des résultats plasmatiques

Résultats rapportés du test BKV Quant Assay		
UI/mL	Valeurs \log_{10}	Interprétation
Non détecté	Non détecté	ADN du virus BKV non détecté.
< 79 détecté	< 1,90	L'ADN du virus BKV est détecté, mais à un niveau inférieur à la limite inférieure de quantification (LLOQ).
79 à 1,0E09	1,90 à 9,00	La concentration en ADN du virus BKV est dans la plage quantitative comprise entre la LLOQ et la ULOQ UI/mL.
> 1,0E09	> 9,00	La concentration en ADN du virus BKV est supérieure à la limite supérieure de quantification (ULOQ).
Non valide ^a	Non valide ^a	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé à nouveau.

^a Les résultats non valides sont affichés dans une police de couleur bleue.

Tableau 3: Interprétation des résultats de l'urine

Résultats rapportés du test BKV Quant Assay		
UI/mL	Valeurs \log_{10}	Interprétation
Non détecté	Non détecté	ADN du virus BKV non détecté.
< 162 détecté	< 2,21	L'ADN du virus BKV est détecté, mais à un niveau inférieur à la limite inférieure de quantification (LLOQ).
162 à 2,0E09	2,21 à 9,30	La concentration en ADN du virus BKV est dans la plage quantitative comprise entre la LLOQ et la ULOQ UI/mL.
> 2,0E09	> 9,30	La concentration en ADN du virus BKV est supérieure à la limite supérieure de quantification (ULOQ).
Non valide ^a	Non valide ^a	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé à nouveau.

^a Les résultats non valides sont affichés dans une police de couleur bleue.

Limites

- A. L'utilisation de ce test est limitée au personnel formé à la procédure. Le non-respect de ces instructions peut compromettre les résultats.
- B. L'obtention de résultats fiables repose sur le prélèvement, le transport, la conservation et le traitement appropriés des échantillons.
- C. Éviter la contamination en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et les procédures décrites dans cette notice.
- D. Bien que rares, des mutations au sein des régions hautement conservées du génome viral couvertes par les amorces ou les sondes du test Panther Fusion BKV Quant assay peuvent aboutir à une sous-quantification ou à une absence de détection du virus.
- E. Un résultat négatif n'exclut pas une infection au virus BKV et ne doit pas être utilisé comme seule base pour le traitement ou les autres décisions pour la prise en charge du patient.
- F. Un résultat positif indique la détection de l'acide nucléique du virus en cause. L'acide nucléique peut persister même après que le virus ne soit plus viable.

Performance

Limite de détection à l'aide du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS

D'après le protocole EP17-A2 du CLSI, la limite de détection (LoD) du test est définie comme la concentration en ADN du virus BKV dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 %.⁷

Limite de détection avec les étalons de l'OMS dans le plasma

La LoD a été déterminée en testant des panels du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS (code NIBSC 14/212) pour le virus BKV dilué dans du plasma humain négatif au virus BKV. Vingt (20) répliquats de chaque dilution ont été testés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 60 répliquats par dilution. Une analyse Probit a été réalisée pour obtenir les limites de détection attendues. Les valeurs de LoD présentées dans le Tableau 4 sont les résultats du lot de réactif avec la limite de détection attendue la plus élevée. La LoD du test Panther Fusion BKV Quant assay avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS est de 43,1 UI/mL pour le plasma.

Tableau 4: Limite de détection pour le plasma avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le virus BKV

Seuil de détection prévu	Concentration (UI/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

Limite de détection avec les étalons de l'OMS dans l'urine

La LoD a été déterminée en testant des panels du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le virus BKV dilué dans de l'urine humaine négative au virus BKV. Vingt (20) répliquats de chaque dilution ont été testés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 60 répliquats par dilution. Une analyse Probit a été réalisée pour obtenir les limites de détection attendues. Les valeurs de LoD présentées dans le Tableau 5 sont les résultats du lot de réactif avec la limite de détection attendue la plus élevée. La LoD du test Panther Fusion BKV Quant assay avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS est de 143,6 UI/mL pour l'urine.

Tableau 5: Limite de détection pour l'urine avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le virus BKV

Seuil de détection prévu	Concentration (UI/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

Plage linéaire

Plage linéaire dans le plasma

La plage linéaire a été établie en analysant des panels de virus BKV dilué dans du plasma humain, négatif au virus BKV, conformément au protocole EP06-A du CLSI.⁸ La concentration des panels variait de 1,80 log UI/mL à 9,08 log UI/mL. La linéarité du test Panther Fusion BKV Quant Assay a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée. La limite supérieure de quantification (ULOQ) du test est de 9,00 log UI/mL, comme indiqué dans la Figure 3.

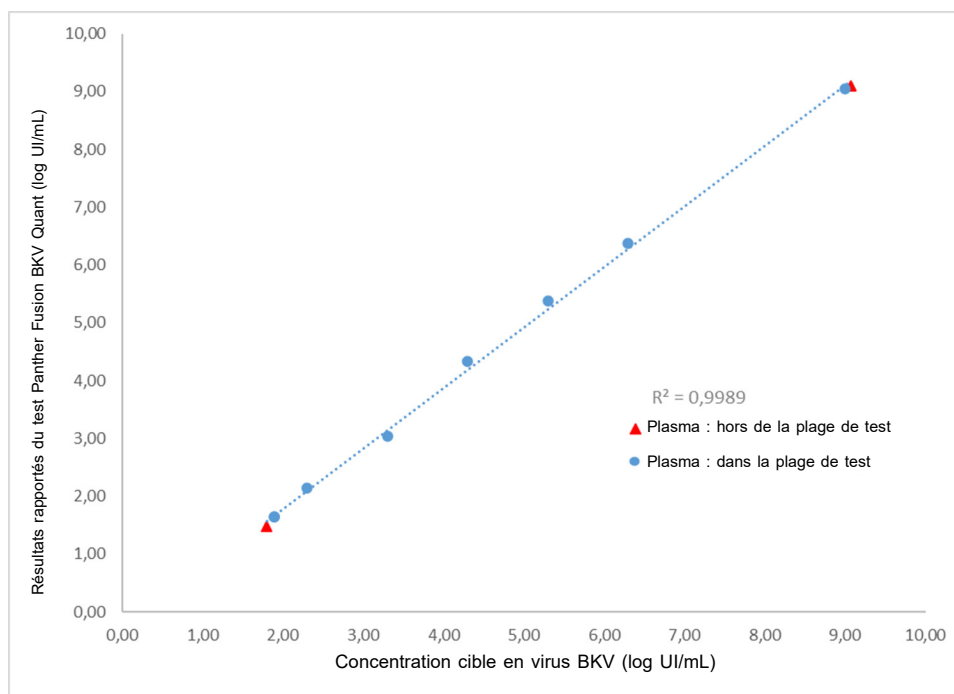


Figure 3. Linéarité dans le plasma

Plage linéaire dans l'urine

La plage linéaire a été établie en analysant des panels de virus BKV dilué dans de l'urine humaine négative au virus BKV, conformément au protocole EP06-A du CLSI.⁸ La concentration des panels variait de 2,11 log UI/mL à 9,38 log UI/mL. La linéarité du test Panther Fusion BKV Quant Assay a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée. La limite supérieure de quantification (ULoQ) du test est de 9,30 log UI/mL, comme indiqué dans la Figure 4.

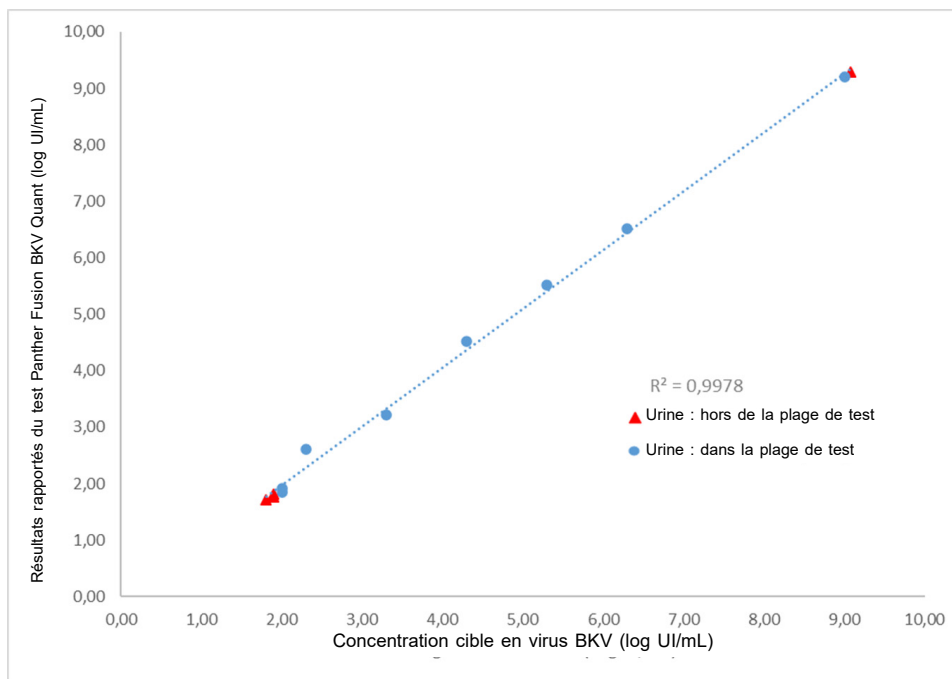


Figure 4. Linéarité dans l'urine

Limite inférieure de quantification avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite inférieure de quantification (LLoQ) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle la quantification de virus BKV est fiable.⁷ L'erreur totale a été estimée à l'aide du modèle Westgard : Erreur totale (ET) = |biais| + 2 SD (écart-type). Pour garantir la précision et l'exactitude des mesures, l'erreur totale du test Panther Fusion BKV Quant assay a été définie à 1,2 log UI/mL, avec un biais à la vérité qui doit être $\leq 0,5$ log UI/mL et un écart-type $\leq 0,35$ log UI/mL.

Limite inférieure de quantification avec l'étalon de l'OMS dans le plasma

La LLoQ a été déterminée en testant des panels du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS (code NIBSC 14/212) pour le virus BKV dilué dans du plasma humain négatif au virus BKV. Vingt (20) réplicats de chaque dilution ont été testés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 60 réplicats par dilution. Les résultats de la LLoQ pour les trois lots de réactifs sont présentés dans le Tableau 6. La LLoQ obtenue avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le virus BKV dans le plasma est de 79 UI/mL (1,90 log UI/mL).

Tableau 6: Détermination de la LLoQ avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le virus BKV dilué dans du plasma

Lot de réactifs	N	N Détecté	Concentration en cible (log UI/mL)	BKV Quant Assay (log UI/mL)	SD (log UI/mL)	Biais (log UI/mL)	ET calculée (log UI/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 = écart-type $\leq 0,35$ (log UI/mL).

|Biais|= biais à la vérité $\leq 0,5$ (log UI/mL).

La dilution correspondant à la concentration de la LLoQ et testée sur chaque lot de réactifs est surlignée en gris.

Limite inférieure de quantification avec l'étalon de l'OMS dans l'urine

La LLoQ a été déterminée en testant des panels du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS (code NIBSC 14/212) pour le virus BKV dilué dans l'urine humaine négative au virus BKV. Vingt (20) répliquats de chaque dilution ont été testés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 60 répliquats par dilution. Les résultats de la LLoQ pour les trois lots de réactifs sont présentés dans le Tableau 7. La LLoQ obtenue avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le virus BKV dans l'urine est de 162 UI/mL (2,21 log UI/mL).

Tableau 7: Détermination de la LLoQ avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le virus BKV dilué dans l'urine

Lot de réactifs			Concentration	BKV Quant	SD	Biais	ET calculée
	N	N Détecté	en cible (log UI/mL)	Assay (log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
1	20	20	2,21	2,09	0,24	0,2	0,7
	20	20	2,26	2,15	0,20	0,2	0,5
	20	20	2,30	2,15	0,23	0,2	0,7
	20	20	2,38	2,27	0,20	0,2	0,6
2	20	20	2,21	1,98	0,22	0,2	0,7
	20	20	2,26	2,14	0,27	0,2	0,7
	20	20	2,30	2,23	0,20	0,2	0,6
	20	20	2,38	2,27	0,25	0,2	0,7
3	20	20	2,21	1,97	0,24	0,3	0,7
	20	20	2,26	2,03	0,22	0,3	0,7
	20	20	2,30	2,08	0,18	0,2	0,6
	20	20	2,38	2,13	0,23	0,3	0,7

SD = écart-type $\leq 0,35$ (log UI/mL).|Biais|= biais à la vérité $\leq 0,5$ (log UI/mL).

La dilution correspondant à la concentration de la LLoQ et testée sur chaque lot de réactifs est surlignée en gris.

Confirmation de la limite inférieure de quantification pour tous les génotypes du virus BKV

Limite inférieure de quantification pour les différents génotypes dans le plasma

La LLoQ établie avec l'étalon de l'OMS a été évaluée en testant les génotypes I (1b-2) et IV du virus BKV enrichis à 3X la LLoQ dans le plasma humain négatif au virus BKV. Trois réplicats de chaque échantillon du panel ont été testés avec un lot de réactif. Les résultats sont présentés dans le Tableau 8.

Tableau 8: Confirmation de la LLoQ pour les différents génotypes dans le plasma

Isolé (Génotype)			Concentration en	BKV Quant	SD	Biais
	N	N Détecté	cible (log UI/mL)	Assay (log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
Génotype I (1b-2)	3	3	2,37	2,59	0,08	0,2
Génotype IV	3	3	2,37	2,25	0,05	0,1

SD = écart-type.

Limite inférieure de quantification pour les différents géotypes dans l'urine

La LLoQ établie avec le standard OMS a été évaluée en testant les dilutions des géotypes I (1b-2) et IV du BKV dans l'urine humaine négative au BKV. Trois réplicats de chaque échantillon du panel ont été testés avec un lot de réactif. Les résultats sont présentés dans le Tableau 9.

Tableau 9: Confirmation de la LLoQ pour les différents géotypes dans l'urine

Isolé (Géotype)	N	N Détecté	Concentration en BKV Quant		SD (log UI/mL)	Biais (log UI/mL)
			cible (log UI/mL)	Assay (log UI/mL)		
Géotype I (1b-2)	3	3	2,69	2,43	0,27	0,0
Géotype IV	3	3	2,69	2,57	0,16	0,2

SD = écart-type.

Traçabilité au 1^{er} étalon de référence international de l'OMS

Une série d'étalons secondaires avec des concentrations connues a été utilisée tout au long de l'élaboration et de la fabrication des produits pour établir la traçabilité à l'étalon de l'OMS. Le 1^{er} étalon de l'OMS pour le virus BKV a été dilué et testé avec les étalons secondaires et avec les contrôles du test et les calibrateurs utilisés dans le test Panther Fusion BKV Quant assay pour évaluer la traçabilité conformément au protocole EP32-R du CLSI.⁹ Les concentrations des étalons secondaires variaient de 2,30 à 6,30 log₁₀ UI/mL.

Traçabilité à l'étalon de l'OMS avec le plasma

Les concentrations testées pour le 1^{er} étalon de l'OMS pour le virus BKV se situaient entre 2,07 et 4,70 log UI/mL. Les panels de plasma de l'OMS, les étalons secondaires, les contrôles de test

et les calibrateurs de test se sont rétablis comme prévu sur l'ensemble de la plage linéaire du test, comme l'illustre la Figure 5.

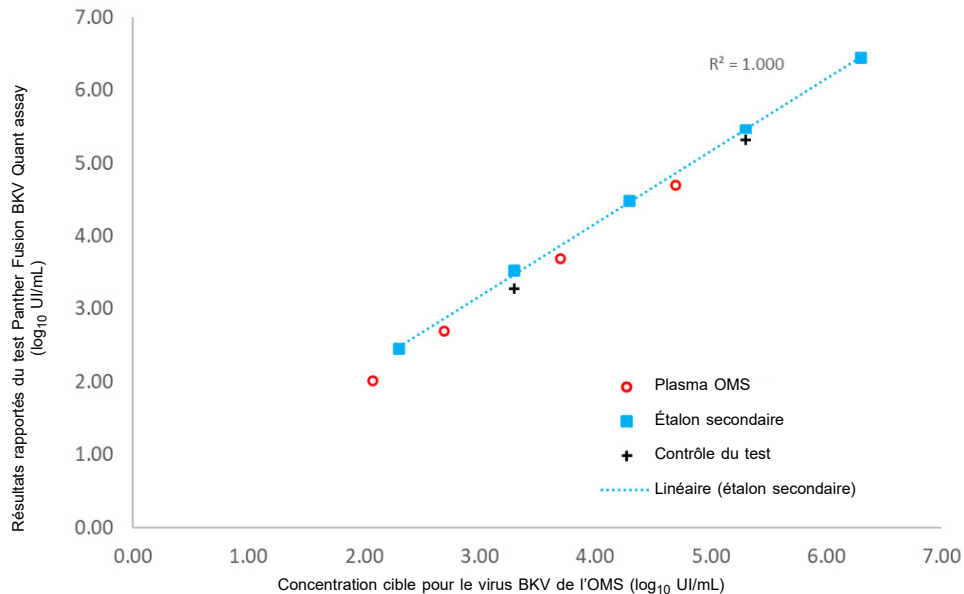


Figure 5. Traçabilité entre les concentrations cibles du 1^{er} étalon de l'OMS pour le virus BKV et les concentrations rapportées avec le test Panther Fusion BKV Quant assay (étalon de l'OMS dilué dans du plasma)

Traçabilité à l'étalon de l'OMS avec l'urine

Les concentrations testées pour le 1^{er} étalon de l'OMS pour le virus BKV dans l'urine se situaient entre 2,38 et 5,00 log₁₀ UI/mL. Les panels d'urine de l'OMS, les étalons secondaires, les contrôles de test et les calibrateurs de test se sont rétablis comme prévu sur l'ensemble de la plage linéaire du test, comme l'illustre la Figure 6.

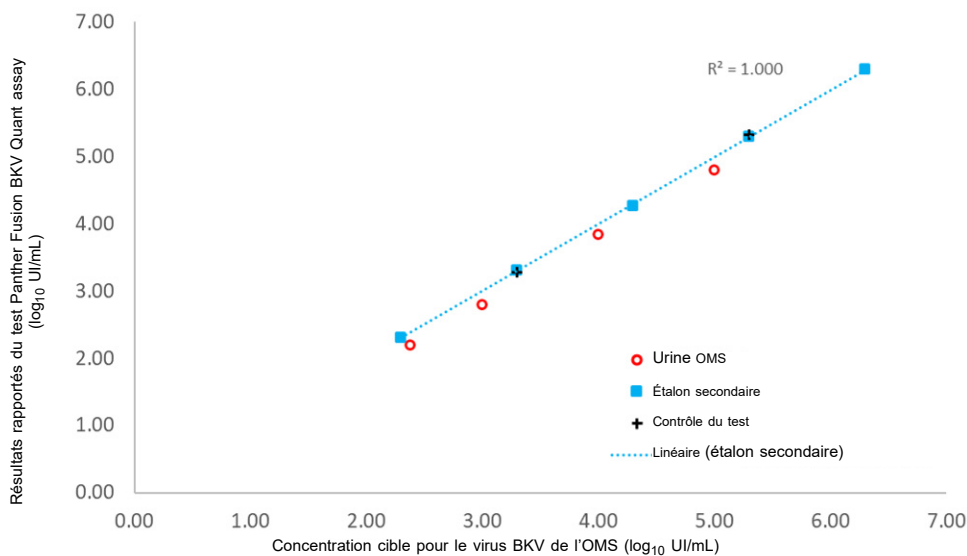


Figure 6. Traçabilité entre les concentrations cibles du 1^{er} étalon de l'OMS pour le virus BKV et les concentrations rapportées avec le test Panther Fusion BKV Quant assay (étalon de l'OMS dilué dans l'urine)

Précision au sein du laboratoire

Urine

Pour évaluer la précision au sein du laboratoire, un panel négatif et un panel de 3 échantillons ont été constitués en diluant l'ADN du virus BKV dans de l'urine négative au virus BKV. Les panels positif et négatif ont été testés par 2 opérateurs avec 3 lots de réactif sur 3 Panther Fusion System, sur 6 jours de test non consécutifs. Chaque opérateur a effectué 2 séries par jour et chaque échantillon du panel a été testé en triplica dans chaque série. L'étude a été conçue et analysée conformément aux recommandations du protocole EP-05-A3 du CLSI.¹⁰

Le Tableau 10 présente la reproductibilité des résultats du test (en log UI/mL), pour le panel positif, entre les appareils, les opérateurs, les lots de cartouche, les journées pour les séries et en général. La variabilité totale était principalement due à la variabilité intra-série (p. ex., erreur aléatoire). Tous les réplicats du panel négatif étaient négatifs.

Tableau 10: Reproductibilité du test Panther Fusion BKV Quant assay dans l'urine

N	Concentration moyenne (log UI/mL)	Inter-Lot	D'un appareil à l'autre	D'un opérateur à l'autre	Inter-Jour	Inter-Exécuter	Intra-Exécuter	Total
		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 = écart-type.

Substances potentiellement interférentes

La sensibilité du test Panther Fusion BKV Quant à l'interférence par des niveaux élevés de substances endogènes, d'anticoagulants et de médicaments couramment prescrits aux patients transplantés a été évaluée dans des matrices négatives au virus BKV, en présence ou en l'absence respectivement de 2,37 log UI/mL et de 2,69 log UI/mL de virus BKV dans le plasma et l'urine. Les concentrations du test pour chaque substance interférente ont été sélectionnées en fonction des références disponibles dans la littérature et des directives des protocoles EP07¹¹ et EP37¹² du CLSI.

Aucune interférence sur la précision de la quantification du test n'a été observée dans le plasma ou dans les échantillons d'urine en présence des substances potentiellement interférentes énumérées dans les Tableau 11 et Tableau 12.

Tableau 11: Substances endogènes du plasma

Substance potentiellement interférente	Nombre de réplicats	Concentration testée
Albumine	3	6 000 mg/dL
Bilirubine conjuguée	3	40 mg/dL
Hémoglobine	3	10 mg/dL
ADN génomique humain	3	0,2 mg/dL
Triglycérides	3	3,45 mg/dL
Bilirubine non conjuguée	3	40 mg/dL

Tableau 12: Substances endogènes de l'urine

Substance potentiellement interférente	Nombre de répliquats	Concentration testée
Albumine	3	6 000 mg/dL
Bilirubine conjuguée	3	40 mg/dL
Estradiol	3	8E-05 mg/dL
Glucose	3	200 mg/dL
Mucine	3	6 mg/dL
Cellules mononucléaires de sang périphérique	3	1E+06 cellules/mL
pH, acide (HCl)	3	2 mM
pH, alcalin (NaOH)	3	0,2 mM
Sperme	3	5 %
Sang total	3	2 %

Aucune interférence au niveau de la précision de la quantification n'a été observée en présence des substances exogènes énumérées dans les Tableau 13 et Tableau 14.

Tableau 13: Substances exogènes pour le plasma

Substance potentiellement interférente	Nombre de répliquats	Concentration testée
Acyclovir	3	6,6 mg/dL
Azathioprine	3	0,258 mg/dL
Cefotétan	3	71,1 mg/dL
Cidofovir	3	12,4 mg/dL
Clavulanate de potassium	3	1,47 mg/mL
Cyclosporine	3	0,180 mg/dL
Évérolimus	3	0,0183 mg/dL
Fluconazole	3	2,55 mg/dL
Foscarnet	3	108 mg/dL
Ganciclovir	3	3,96 mg/dL
Letmovir	3	3,9 mg/dL
Micafungin	3	6,6 mg/dL
Mycophénolate mofétil	3	18,1 mg/dL
Composé B lié au mycophénolate mofétil	3	18,1 mg/dL
Naproxène	3	36 mg/dL
Pipéracilline	3	110 mg/dL
Prednisone	3	0,0099 mg/dL
Sirolimus	3	0,0213 mg/dL
Sulfaméthoxazole	3	35,7 mg/dL
Tacrolimus	3	0,0144 mg/dL
Sodium de Tazobactam	3	10,2 mg/dL

Tableau 13: Substances exogènes pour le plasma (suite)

Substance potentiellement interférente	Nombre de réplicats	Concentration testée
Ticarcillin disodique	3	151 mg/dL
Triméthoprim	3	4,2 mg/dL
Valganciclovir	3	4,83 mg/dL
Vancomycine	3	12 mg/dL

Tableau 14: Substances exogènes pour l'urine

Substance potentiellement interférente	Nombre de réplicats	Concentration testée
Acétaminophène	3	3 mg/dL
Acide acétylsalicylique	3	3 mg/dL
Clotrimazole	3	0,5 mg/dL
Ibuprofène	3	21,9 mg/dL
Métronidazole	3	12,3 mg/dL
Naproxène	3	36 mg/dL
Chlorhydrate de phénazopyridine	3	79,5 mg/dL
Propylène glycol	3	130 mg/dL
Talc	3	5 mg/dL

Spécificité analytique

La réactivité croisée potentielle avec les agents pathogènes listés dans le Tableau 15 a été évaluée dans des matrices négatives au virus BKV, en présence ou l'absence respectivement de 2,37 log UI/mL et de 2,69 log UI/mL de virus BKV dans le plasma et l'urine. Les agents pathogènes ont été testés à la plus forte concentration disponible. Aucune réactivité croisée ou interférence sur la précision de la quantification n'a été observée.

Tableau 15: Agents pathogènes testés pour la spécificité analytique

Micro-organisme/pathogène	Concentration	Micro-organisme/pathogène	Concentration
ADV-5	1,00E+05 TCID ₅₀ /mL	Virus de l'herpès humain de type 7	1,00E+03 TCID ₅₀ /mL
<i>Aspergillus niger</i>	1,00E+06 UFC/mL	Virus de l'herpès humain de type 8	1,00E+05 TCID ₅₀ /mL
<i>Bacillus cereus</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06 cp/mL
<i>Bacillus subtilis</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Candida glabrata</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Candida parapsilosis</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Mycobacterium avium</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Candida tropicalis</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 UCC/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,00E+06 UFI/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1,00E+06 UFC/mL	Parvovirus humain B19	1,00E+05 UI/mL
CMV	1,00E+05 cp/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06 UFC/mL
EBV	1,00E+05 cp/mL	<i>Salmonella enterica</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Enterococcus faecium</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 UFC/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,00E+06 UFC/mL
VHB	1,00E+05 UI/mL	<i>Streptococcus bovis</i>	1,00E+06 UFC/mL
VHC	1,00E+04 UI/mL	<i>Streptococcus oralis</i>	1,00E+06 UFC/mL
VIH-1	1,00E+05 UI/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 UFC/mL
VIH-2	1,00E+04 UI/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 UFC/mL
HSV-1	1,00E+06 TCID ₅₀ /mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,00E+05 trophozoïtes/mL
HSV-2	1,00E+04 TCID ₅₀ /mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1,00E+06 cp/mL
HPV-16 (cellules infectées SiHa)	1,00E+05 cellules/mL	Virus varicelle-zona	1,00E+05 cp/mL
Virus de l'herpès humain de type 6	1,00E+05 cp/mL	—	—

UCC/mL = unités de changement de colonie/mL.

UFC/mL = unités de formation de colonies par mL.

cp/mL = copies virales par mL.

UFI/mL = unités de formation d'inclusions par mL.

UI/mL = unités internationales par mL.

TCID₅₀/mL = Unités de dose infectieuse de culture tissulaire par mL.

Corrélation de la méthode

Cette étude a été conçue conformément au protocole EP09c du CLSI.¹³

Corrélation de la méthode pour le plasma

La performance du test Panther Fusion BKV Quant assay a été évaluée par rapport à un test comparatif en testant des échantillons prélevés rétrospectivement et des échantillons contributifs couvrant toute la plage linéaire. Un total de 108 échantillons dans la plage linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression linéaire de Deming, comme indiqué dans la Figure 7.

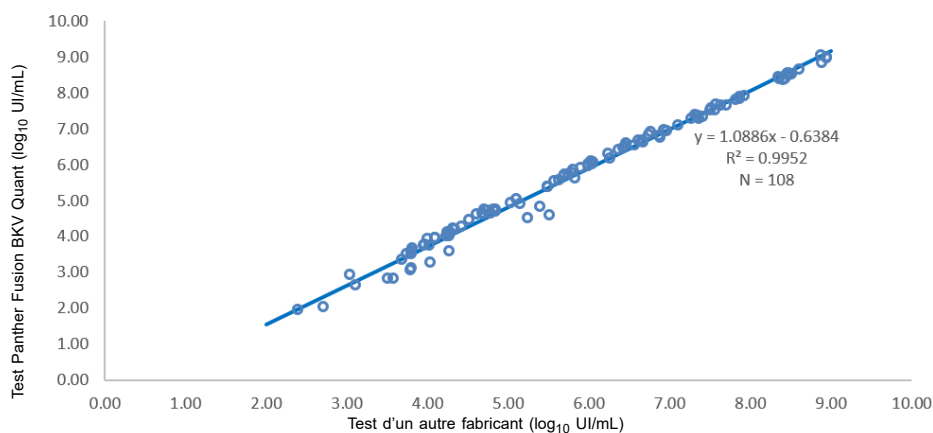


Figure 7. Corrélation entre la charge virale en BKV dans le test Panther Fusion BKV Quant assay et le test comparatif lors de l'analyse d'échantillons de plasma

Corrélation de la méthode pour l'urine

La performance du test Panther Fusion BKV Quant assay a été évaluée par rapport à un test comparatif en testant des échantillons prélevés rétrospectivement et des échantillons contributifs couvrant toute la plage linéaire. Un total de 153 échantillons dans la plage linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression linéaire de Deming, comme indiqué dans la Figure 8.

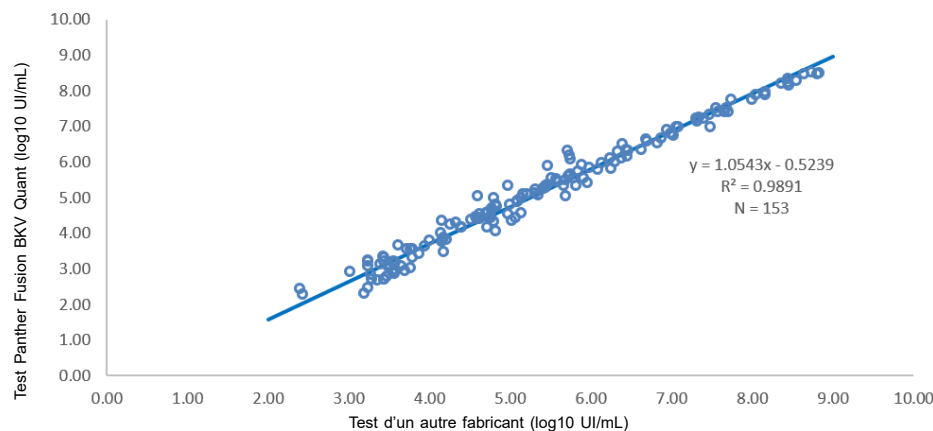


Figure 8. Corrélation entre la charge virale en BKV dans le test Panther Fusion BKV Quant assay et le test comparatif lors de l'analyse d'échantillons d'urine

Contamination transférée/croisée

La contamination par transfert a été évaluée à l'aide d'échantillons STM à titre élevé enrichis en BKV (1.00E+09 UI/mL) répartis entre des échantillons négatifs pour le virus BKV selon un motif en damier. L'analyse a comporté 5 séries. Le taux de contamination de transfert global était de 0,00 % (0/150).

Bibliographie

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

Informations de contact



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



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

Sponsor australien :
Hologic (Australie et Nouvelle-Zélande) Pty Ltd
Macquarie Park, NSW 2113

Pour obtenir l'adresse e-mail et le numéro de téléphone du service technique et du service client spécifiques à chaque pays, consultez le site Web <http://www.hologic.com/support>.

Hologic, Aptima, Panther et Panther Fusion et les logos correspondants sont des marques commerciales ou des marques commerciales déposées de Hologic, Inc. ou de ses filiales, aux États-Unis ou dans d'autres pays.

Quasar est une marque commerciale déposée et homologuée de Biosearch Technologies, Inc.

Toutes les autres marques commerciales qui peuvent apparaître dans cette notice sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.

Ce produit peut être couvert par un ou plusieurs brevets américains identifiés sur le site www.hologic.com/patents.

©2022-2023 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-26020-901 Rév. 002
2023-12