

BKV Quant Assay (Panther Fusion™)

Para uso diagnóstico *in vitro*

Para exportación de EE. UU. solamente

ÍNDICE

Información general	2
Usado previsto	2
Resumen y explicación de la prueba	2
Principios del procedimiento	2
Advertencias y precauciones	4
Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos	6
Recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas	7
Muestras conservadas en el Panther Fusion System	8
Transporte de muestras	9
Panther Fusion System	10
Reactivos y materiales suministrados	10
Material necesario y disponible por separado	11
Materiales opcionales	12
Procedimiento de prueba del Panther Fusion System	12
Notas de procedimiento	17
Control de calidad	18
Calibración del ensayo	18
Controles negativo y positivo	18
Control interno	19
Interpretación de resultados	20
Limitaciones	21
Rendimiento	22
Límite de detección utilizando la 1. ^a norma internacional de la OMS	22
Rango lineal	23
Límite inferior de cuantificación de detección utilizando la 1. ^a norma internacional de la OMS	24
Confirmación del límite inferior de cuantificación en distintos genotipos de BKV	26
Rastreabilidad con respecto a la 1. ^a norma internacional de la OMS	27
Precisión intralaboratorio	28
Sustancias potencialmente interferentes	29
Especificidad analítica	31
Correlación de métodos	32
Arrastre/contaminación cruzada	33
Bibliografía	33
Información de contacto	34

Información general

Uso previsto

El Panther Fusion™ BKV Quant Assay es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* totalmente automatizada que utiliza PCR en tiempo real (RT-PCR) para cuantificar el DNA del virus de BK (BKV) en muestras humanas de plasma y orina.

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

El Panther Fusion BKV Quant Assay no está concebido para utilizarse como un ensayo de cribado para la presencia de BKV en plasma u orina. El ensayo se ha diseñado para utilizarse con el Panther Fusion System.

Resumen y explicación de la prueba

El BKV es un virus pequeño sin envoltura muy prevalente con un genoma de DNA bicatenario circular cerrado. El BKV es un poliomavirus humano que pertenece a la familia papovaviridae.

La exposición primaria al BKV se produce en la infancia, lo que da como resultado que entre el 80 y el 90 % de los adultos hayan desarrollado anticuerpos contra el BKV. La mayoría de las infecciones primarias por BKV son asintomáticas o mínimamente sintomáticas. Después de la infección primaria, se cree que el virus permanece latente en las vías urinarias sin manifestación de enfermedad en pacientes inmunocompetentes.¹

La reactivación vírica se produce en pacientes inmunodeprimidos y ocurre con frecuencia en pacientes con trasplante renal y pacientes con trasplante de hemocitoblastos (HSCT). En pacientes con trasplante renal, la reactivación de BKV se asocia con nefropatía (BKVN) y estenosis ureteral, la BKVN ocurre en aproximadamente el 5 % de los pacientes con trasplante renal en el plazo de un año posterior a partir del trasplante. La reactivación de BKV es importante para los receptores de HSCT con cistitis hemorrágica de inicio tardío que ocurre en un 6-29 % de los pacientes en el plazo de 2 meses posteriores a partir del trasplante.²

Las pruebas cuantitativas de amplificación de ácidos nucleicos a partir de muestras de plasma u orina son un marcador de laboratorio importante para el diagnóstico y seguimiento de la infección por BKV en receptores de trasplantes. Las directrices recientes recomiendan que los pacientes con trasplante de riñón se sometan a pruebas de detección periódicas de los niveles de DNA de BKV en plasma después del trasplante para identificar a los pacientes considerados para el tratamiento preventivo de la nefropatía. El riesgo de desarrollar BKVN aumenta cuando se observan niveles altos de DNA de BKV en plasma u orina, pero puede ocurrir en pacientes con niveles inferiores de BKV.^{3,4}

Principios del procedimiento

El Panther Fusion System automatiza íntegramente el procesamiento de muestras, tales como lisis celular, captura de ácido nucleico, amplificación y detección para el Panther Fusion BKV Quant Assay. El Panther Fusion BKV Quant Assay tiene como diana el gen muy conservado VP2 para garantizar una cuantificación exacta del DNA del BKV. El ensayo cumple la 1.^a norma internacional de la OMS sobre el BKV (código NIBSC: 14/212).⁵

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

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

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

El Panther Fusion System ofrece un valor Ct proporcional a la concentración del BKV en las muestras del análisis. El software del Panther Fusion System determina la concentración de la muestra utilizando los valores Ct del BKV correspondientes a cada reacción y comparándolos con la curva de calibración. Los resultados del BKV se muestran en UI/mL y \log_{10} UI/mL tanto para muestras de plasma como para muestras de orina. Cuando se selecciona el factor de conversión de orina en el software del Panther Fusion, se aplica automáticamente un factor de dilución de 2 a los resultados de carga vírica del BKV para considerar el paso de dilución durante el procesamiento de las muestras de orina.

Las dianas y los canales utilizados para su detección en el Panther Fusion System se resumen en la siguiente tabla:




Español	Gen diana	Canal del instrumento
Virus BK	VP2	ROX
Control interno	No aplicable	Quasar 705

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profesional.
- C. Lea minuciosamente todo el prospecto y el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System* antes de efectuar este ensayo.
- D. El Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) es corrosivo, nocivo si se ingiere y provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares.
- E. Estos procedimientos debe realizarlos únicamente el personal con la formación adecuada en el uso de este ensayo y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún derrame, proceda inmediatamente a la desinfección siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- F. Las muestras pueden ser infecciosas. Tome las precauciones universales al realizar este ensayo. El director del laboratorio debe establecer métodos de manipulación y eliminación adecuados. Solo se debe permitir la realización de este procedimiento de diagnóstico al personal con la formación necesaria en manipulación de materiales infecciosos.⁶
- G. Tome las precauciones habituales del laboratorio. No pipetee con la boca. No coma, beba ni fume en las áreas de trabajo designadas. Utilice guantes desechables sin polvo, gafas protectoras y batas de laboratorio al manipular muestras y reactivos. Lávese las manos cuidadosamente después de manipular las muestras y los reactivos.
- H. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- I. Las superficies de trabajo, pipetas y otros equipos se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M).
- J. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y reactivos siguiendo las normas regionales, nacionales e internacionales vigentes.
- K. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar su integridad. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- L. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles al aflojar o destapar los tubos de muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de virus u otros microorganismos. Asegúrese de que los recipientes de especímenes no entren en contacto entre sí y deseche los materiales usados sin hacerlos pasar sobre los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con las muestras.
- M. No utilice los reactivos, los calibradores ni los controles tras su fecha de caducidad. No use el tubo de transporte de muestras de orina Aptima™ después de su fecha de caducidad.
- N. Guarde los componentes del ensayo bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas. Consulte *Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos y Procedimiento de prueba del Panther Fusion System* para obtener más información.

- O. No combine los reactivos ni los fluidos del ensayo. No rellene los reactivos ni los fluidos; el Panther Fusion System verifica los niveles de reactivo.
- P. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.
- Q. Las muestras de control de calidad deben analizarse en conformidad con los requisitos de acreditación o las normativas locales, estatales o federales, y los procedimientos de control de calidad estándar de su laboratorio.
- R. No utilice el cartucho de ensayo si la bolsa de almacenamiento ha perdido su sello o si la lámina del cartucho de ensayo no está intacta. En cualquiera de los dos casos, póngase en contacto con la asistencia técnica de Hologic.
- S. No use paquetes de fluidos si el sello de aluminio no está intacto. Si esto ocurre, póngase en contacto con la asistencia técnica de Hologic.
- T. Manipule los cartuchos de ensayo con cuidado. No deje caer ni invierta los cartuchos de ensayo. Evite la exposición prolongada a la luz ambiente.
- U. Algunos reactivos de este kit están etiquetados con símbolos de riesgo y seguridad.

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

Información sobre riesgos en la UE.	
	<p>Cartucho Panther Fusion BKV Quant Assay Cartridge <i>Dextrina 20 %-25 %</i></p> <p>— —</p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos P273 - Evitar su liberación al medio ambiente P280 - Llevar gafas/máscara de protección</p>
	<p>Aceite Panther Fusion <i>Polydimethylsiloxane 100 %</i></p> <p>Atención</p> <p>H315 - Provoca irritación cutánea H319 - Provoca irritación ocular grave</p>
 	<p>Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5 %-10 %</i></p> <p>Peligro</p> <p>H302 - Nocivo en caso de ingestión H314 - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves P260 - No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol P280 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección P303 + P361 + P353 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse P305 + P351 + P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando P310 - Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico P280 - Llevar gafas/máscara de protección</p>

Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos

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

Reactivo	Almacenamiento del reactivo cerrado	Estabilidad en el instrumento/ una vez abierto¹	Almacenamiento o una vez abierto
Cartucho Panther Fusion BKV Quant Assay Cartridge	Entre 2 °C y 8 °C	60 días	Entre 2 °C y 8 °C ²
Panther Fusion Capture Reagent-B (FCR-B)	Entre 15 °C y 30 °C	30 días	Entre 15 °C y 30 °C
Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B)	Entre 15 °C y 30 °C	30 días	Entre 15 °C y 30 °C
Control interno Panther Fusion Internal Control-B (IC-B)	Entre 2 °C y 8 °C	(En wFCR-B)	No aplicable
Tampón de elución Panther Fusion	Entre 15 °C y 30 °C	60 días	Entre 15 °C y 30 °C
Aceite Panther Fusion	Entre 15 °C y 30 °C	60 días	Entre 15 °C y 30 °C
Tampón de reconstitución Panther Fusion I	Entre 15 °C y 30 °C	60 días	Entre 15 °C y 30 °C
Calibradores Panther Fusion BKV Quant (1-5)	Entre -15 °C y -35 °C	Vial de un solo uso	No aplicable; un solo uso
Control positivo alto Panther Fusion EBV-BKV High Positive Control	Entre -15 °C y -35 °C	Vial de un solo uso	No aplicable; un solo uso
Control positivo bajo Panther Fusion EBV-BKV Quant Low Positive Control	Entre -15 °C y -35 °C	Vial de un solo uso	No aplicable; un solo uso
Control negativo de trasplante Panther Fusion Transplant Negative Control (III)	Entre -15 °C y -35 °C	Vial de un solo uso	No aplicable; un solo uso

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

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

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

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

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

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

E. **No congele los reactivos.**

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

Recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas

Muestras biológicas: material clínico recogido del paciente y colocado en un sistema de transporte adecuado. Para el Panther Fusion BKV Quant Assay, esto incluye muestras de orina recogidas en el contenedor primario, muestras de plasma en tubos que contienen anticoagulantes EDTA o tubos de preparación de plasma (PPT).

Muestras: representan un término más genérico para describir cualquier material para analizar en el Panther Fusion System, incluidas las muestras biológicas, las muestras biológicas procesadas transferidas a un tubo de transporte de muestras de orina Aptima, los calibradores y los controles.

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

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

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

A. Recogida de especímenes

1. Para preparar plasma, pueden utilizarse muestras de sangre completa recogidas en los tubos de cristal o plástico siguientes:
 - Tubos con anticoagulantes EDTA
 - Tubos de preparación de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT)
2. Las muestras de orina deben recogerse en una cubeta.
 - a. Después de la recogida, las muestras de orina en el contenedor de recogida principal deben transferirse a 30 °C en el plazo de una hora al tubo de transporte de muestras de orina Aptima.
 - b. Antes de analizar las muestras de orina, la orina de la cubeta principal debe mezclarse completamente por inversión antes de transferirla al tubo de transporte de muestras de orina Aptima que contiene el medio de transporte de orina.

B. Procesamiento de especímenes

1. **Procesamiento de muestras de plasma:** La sangre total se puede almacenar entre 2 °C y 30 °C, y se debe centrifugar en las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras. Es posible preparar el plasma a partir de tubos primarios de PPT o con EDTA. Separe el plasma del sedimento de eritrocitos siguiendo las instrucciones del fabricante del tubo utilizado. El plasma puede analizarse en el Panther Fusion System en un tubo primario o transferirse a un tubo secundario como el tubo de alícuotas de muestras Aptima (SAT).
Para garantizar un volumen adecuado de muestra, consulte la siguiente tabla:

Tabla 1: Volumen mínimo de muestra

Tubo (tamaño y tipo)	Volumen mínimo para 1 réplica
Tubo de alícuotas de muestras (Specimen Aliquot Tube, SAT) Aptima.	0,6 mL
12 × 75 mm	0,9 mL
13 × 100 mm	0,9 mL
13 × 100 mm con gel	0,7 ml
16 × 100 mm con gel	1,1 mL

Si no se analiza inmediatamente, el plasma puede conservarse de acuerdo con *Condiciones de conservación de las muestras*.

Si se transfirió a un tubo secundario, el plasma puede congelarse a -20 °C o -70 °C.

No congele las muestras de plasma en tubos primarios de recogida con EDTA.

2. Procesamiento de muestras de orina:

- a. Transfiera 2000 µl de orina en el plazo de una hora a 30 °C a un tubo de transporte de muestras de orina Aptima antes de realizar la prueba en el sistema Panther Fusion (consulte la sección sobre manipulación de muestras *Manipulación de muestras de orina*).
- b. Vuelva a taparlo y mezcle la muestra suavemente durante al menos 5 segundos.

C. Condiciones de conservación de las muestras

Las muestras pueden conservarse en una de las condiciones siguientes:

1. Estabilidad del plasma

- Las muestras no procesadas son estables durante 24 horas entre 2 °C y 30 °C después del centrifugado.
- Las muestras no procesadas son estables durante 5 días entre 2 °C y 8 °C después del centrifugado.
- Las muestras no procesadas y procesadas son estables durante 60 días a -20 °C o -70 °C después de la centrifugación.
- Las muestras congeladas también son estables durante hasta tres ciclos de congelación/descongelación.

2. Estabilidad de muestras de orina

- Las muestras no procesadas son estables durante 6 horas entre 2 °C y 8°C.
- Las muestras procesadas son estables durante 24 horas entre 2 °C y 30 °C.
- Las muestras procesadas son estables durante 5 días entre 2 °C y 8 °C.
- Las muestras procesadas son estables durante 60 días a -20 °C o -70 °C.
- Las muestras congeladas también son estables durante hasta tres ciclos de congelación/descongelación.

Muestras conservadas en el Panther Fusion System

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

Transporte de muestras

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

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

Panther Fusion System

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

Reactivos y materiales suministrados

Paquete de ensayo

Componentes	Ref.	Almacenamiento
Calibradores Panther Fusion BKV Quant Assay		
PCAL 1 qBKV, 3 por caja	PRD-07234	Entre -15 °C y -35 °C
PCAL 2 qBKV, 3 por caja		
PCAL 3 qBKV, 3 por caja		
PCAL 4 qBKV, 3 por caja		
PCAL 5 qBKV, 3 por caja		
Controles de ensayo Panther Fusion EBV-BKV Quant Assay Controls		
Tubo HPC High Positive Control, 5 por caja	PRD-07158	Entre -15 °C y -35 °C
Tubo LPC Low Positive Control, 5 por caja		
Tubo NC III Transplant Negative Control, 5 por caja		
Panther Fusion BKV Quant Assay Cartridge, 96 pruebas		
Panther Fusion qBKV Assay Cartridge, 12 pruebas, 8 por caja	PRD-07232	Entre 2 °C y 8 °C
Panther Fusion Internal Control-B, 960 pruebas		
Tubo de control interno Panther Fusion B, 4 por caja	PRD-06234	Entre 2 °C y 8 °C
Panther Fusion Extraction Reagent-B, 960 pruebas		
Frasco de Panther Fusion Capture Reagent-B, 240 pruebas, 4 por caja	PRD-06232	Entre 15 °C y 30 °C
Frasco de Panther Fusion Enhancer Reagent-B, 240 pruebas, 4 por caja		
Tampón de elución Panther Fusion, 2400 pruebas		
Paquete de tampones de elución Panther Fusion, 1200 pruebas, 2 por caja	PRD-04334	Entre 15 °C y 30 °C
Tampón de reconstitución Panther Fusion I, 1920 pruebas		
Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 960 pruebas, 2 por caja	PRD-04333	Entre 15 °C y 30 °C
Reactivo de aceite Panther Fusion, 1920 pruebas		
Panther Fusion Oil Reagent, 960 pruebas, 2 por caja	PRD-04335	Entre 15 °C y 30 °C

Material necesario y disponible por separado

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

Material	N.º de catálogo
Declaración de conformidad de	303095
Panther Fusion™ Module	PRD-04173
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de fluidos del ensayo Aptima™ (Solución de lavado Aptima™, tampón para fluido de desactivación Aptima™ y reactivo de aceite Aptima™)	303014 (1000 pruebas)
Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)	104772-02
Juego de bolsas de desechos Panther™	902731
Tapa del recipiente de desechos Panther™	504405
O bien, el kit de ciclo para Panther™ System contiene MTU, bolsas de desechos, tapas del recipiente de desechos, fluidos del ensayo y reactivos Auto Detect*	303096 (5000 pruebas)
Puntas, 1000 µL, filtradas, conductoras, desechables y detectan el nivel de líquido. <i>No todos los productos están disponibles en todas las zonas. Póngase en contacto con su representante para obtener información específica para su zona.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bandejas de tubos Panther Fusion™, 1008 pruebas, 18 bandejas por caja	PRD-04000
Tubos de transporte de muestras de orina Aptima™ solo para el procesamiento de muestras de orina	105575 (100 tubos prellenados por bolsa)
Tapones sólidos de sustitución Hologic (tapones de tubos desechables)	PRD-06720 (100 tapones por bolsa)
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 al 8,25 % (0,7 M a 1,16 M)	—
Guantes desechables sin polvo	—
Cubiertas de bancos de laboratorio con revestimiento de plástico	—
Paños sin pelusa	—
Pipeteador	—
Puntas	—
Opciones para tubos de recogida primarios (con EDTA y PPT): 13 mm × 100 mm 12 mm × 75 mm 16 mm × 100 mm	—
Centrífuga	—
Mezclador vórtex	—

* Solo necesario para ensayos Panther Aptima TMA.

Materiales opcionales

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

Procedimiento de prueba del Panther Fusion System

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

A. Preparación del área de trabajo

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

B. Preparación de los calibradores y los controles

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

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

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

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

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

C. Preparación de reactivos

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

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

D. Manipulación de muestras

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

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

E. Manipulación de muestras de plasma

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

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

F. Manipulación de muestras de orina

1. Asegúrese de que las muestras en los tubos primarios o las muestras procesadas en los tubos de transporte de muestras de orina Aptima se hayan conservado correctamente de acuerdo con *Recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas*.
2. Asegúrese de que las muestras congeladas en los tubos de transporte de muestras de orina Aptima estén completamente descongeladas.

3. Deje que las muestras alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes de analizarlas en el Panther Fusion System. Consulte *Muestras conservadas en el Panther Fusion System* para obtener más información sobre la conservación en el instrumento.

Nota: Evite cargar muestras que contengan precipitados en el Panther Fusion System.

4. Invierta cuidadosamente los tubos de transporte de muestras de orina Aptima al menos 3 veces o mézclelos suavemente en un balancín hasta que la orina sea homogénea.

Nota: Evite que se cree demasiada espuma al invertir o mezclar los tubos. La espuma puede afectar a la detección del nivel en el Panther Fusion System.

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

G. Preparación del sistema

1. Para obtener instrucciones sobre cómo configurar el Panther Fusion System, incluida la carga de muestras, reactivos, cartuchos de ensayo y fluidos universales, consulte el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System* y las *Notas de procedimiento*.
2. Cargue las muestras en la gradilla de muestras. Lleve a cabo los pasos siguientes para cada tubo de muestras (muestra y, cuando sea necesario, calibradores y controles).
 - a. Afloje el tapón de un tubo de muestras, pero no lo retire aún.

Nota: Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles. Afloje suavemente los tapones de los tubos de muestras.

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

Nota: Antes de cargar la gradilla de muestras en un compartimento de muestras, fije el retén de las muestras si está procesando otros ensayos y tipos de muestras al mismo tiempo.

- g. Repita los pasos 2.a al 2.f con la gradilla de muestras siguiente.

H. Preparación del sistema: Aplicación del factor de conversión de muestras de orina

1. Prepare el sistema de acuerdo con las instrucciones del *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.
2. Cargue la gradilla de muestras.
3. Aplique el factor de conversión de orina a los pedidos de pruebas de ensayo para muestras de orina.

Nota: El factor de conversión de orina se puede aplicar a una gradilla entera o a un solo pedido de pruebas.

Para aplicar el factor de conversión de orina a una gradilla entera de muestras de orina:

- En la pantalla *Compartimento de gradillas de muestras*, haga doble clic en la gradilla de interés. Se abrirá la pantalla *Carga de gradillas de muestras* para la gradilla seleccionada.
- Seleccione **Diluir todo**.

Se abrirá la ventana *Factor de dilución* (Figura 1).

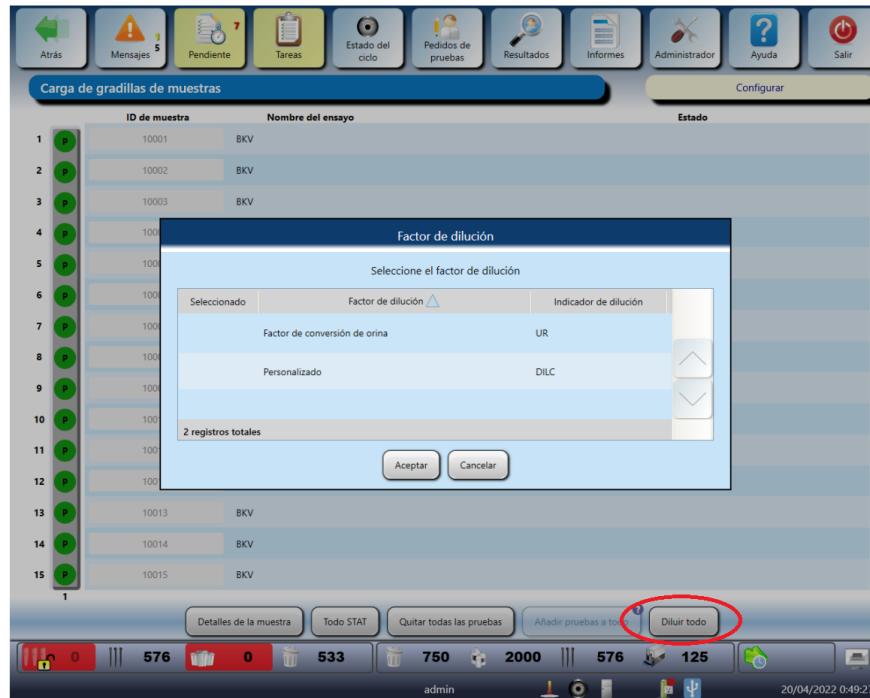


Figura 1. Ventana de carga Factor de dilución en la pantalla Carga de gradillas de muestras (ejemplo)

- Seleccione **Factor de conversión de orina**.
 - Seleccione **Aceptar**.
- La ventana *Establecer factor de dilución para gradilla* aparece.
- Seleccione **Sí** para aplicar el indicador del factor de conversión de orina a la gradilla entera de muestras de orina.

Para aplicar el factor de conversión de orina a un solo pedido de pruebas (Figura 2):

- En la pantalla *Compartimento de gradillas de muestras*, haga doble clic en la gradilla cargada que incluye las muestras de interés.
Se abrirá la pantalla *Carga de gradillas de muestras* para la gradilla de muestras seleccionada.
- En la pantalla *Carga de gradillas de muestras*, haga doble clic en la muestra de interés.
Se abrirá la pantalla *Detalles de la muestra* con los pedidos de pruebas actuales para la muestra seleccionada.
- Seleccione el pedido de pruebas de interés en el panel *Pedidos de pruebas*.

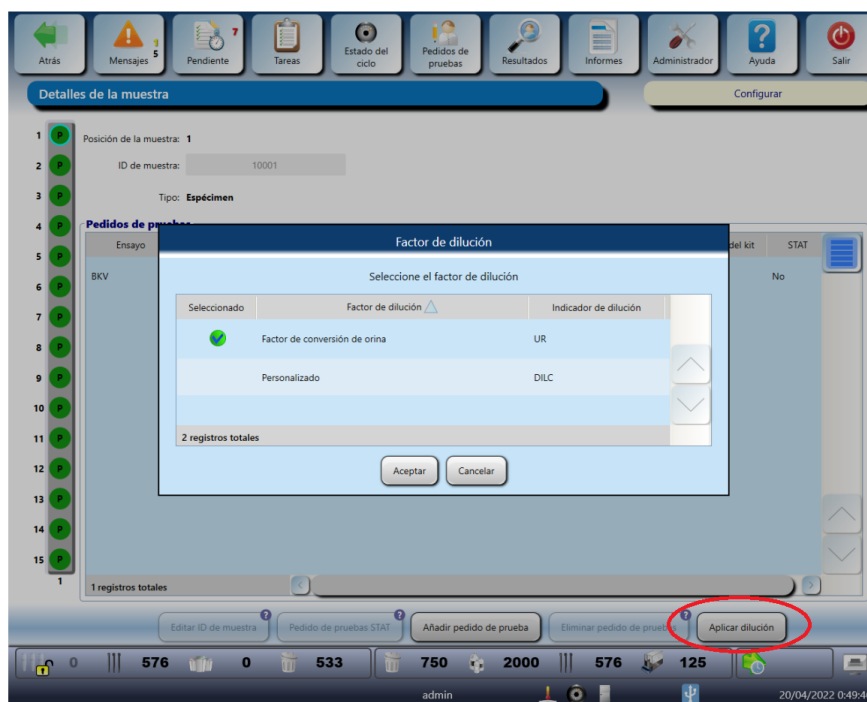
d. Seleccione **Aplicar dilución**.

Figura 2. Ventana Factor de dilución en la pantalla Detalles de la muestra (ejemplo)

- e. Seleccione **Factor de conversión de orina**.
 - f. Seleccione **Aceptar** para aplicar el indicador del factor de conversión de orina a todos los pedidos de pruebas seleccionados.
4. Si es necesario, es posible eliminar el factor de orina de los pedidos de pruebas antes de que comience el procesamiento.

Para eliminar el factor de conversión de orina de una gradilla entera:

- a. En la pantalla *Compartimiento de gradillas de muestras*, haga doble clic en la gradilla de interés.

Se abrirá la pantalla *Carga de gradillas de muestras* para la gradilla seleccionada.

- b. Seleccione **Diluir todo**.
- c. En la ventana *Factor de dilución*, anule la selección de **Factor de conversión de orina**.
- d. Seleccione **Aceptar**.

Se abre una ventana *Establecer factor de dilución para gradilla*.

- e. Seleccione **Sí** para eliminar el factor de conversión de orina de una gradilla entera.

Para eliminar los pedidos de pruebas de ensayo de factor de conversión de orina:

- a. En la pantalla *Compartimiento de gradillas de muestras*, haga doble clic en la gradilla cargada que incluye las muestras de interés.

Se abrirá la pantalla *Carga de gradillas de muestras* para la gradilla de muestras seleccionada.

- b. En la pantalla *Carga de gradillas de muestras*, haga doble clic en la muestra de interés.

Se abrirá la pantalla *Detalles de la muestra* con los pedidos de pruebas actuales para la muestra seleccionada.

- c. Seleccione el pedido de pruebas de interés en el panel *Pedidos de pruebas*.
- d. Seleccione **Aplicar dilución**.
- e. En la ventana *Factor de dilución*, anule la selección de **Factor de conversión de orina**.
- f. Seleccione **Aceptar** para eliminar el factor de conversión de orina para el pedido de pruebas.

Notas de procedimiento

A. Calibradores y controles

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

Control de calidad

Calibración del ensayo

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

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

Como configuración predeterminada, el ensayo procesará las muestras como plasma sin diluir. Para procesar muestras de orina, se debe seleccionar la dilución del factor de conversión de orina en la interfaz de usuario del instrumento.

Controles negativo y positivo

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

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

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

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

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

Control interno

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

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

Interpretación de resultados

El Panther Fusion System determina automáticamente la concentración de DNA de BKV en muestras y controles al comparar los resultados con una curva de calibración. Las concentraciones de DNA de BKV se notifican en UI/mL y \log_{10} UI/mL. La interpretación de los resultados se indica en la Tabla 2 y la Tabla 3.

Tabla 2: Interpretación de resultados de plasma

Resultados notificados del BKV Quant Assay		
UI/mL	Valor Log ₁₀	Interpretación
No detectado	No detectado	DNA de BKV no detectado.
<79 detectados	<1,90	Se detecta DNA de BKV, pero a un nivel inferior al límite inferior de cuantificación (LIDC).
De 79 a 1,0E09	De 1,90 a 9,00	La concentración de DNA de BKV está dentro del rango cuantitativo entre LIDC y LSDC UI/mL.
>1,0E09	>9,00	La concentración de DNA de BKV es superior al límite superior de cuantificación (LSDC).
No válido ^a	No válido ^a	Hubo un error en la generación del resultado. Es necesario volver a analizar la muestra.

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

Tabla 3: Interpretación de resultados de orina

Resultados notificados del BKV Quant Assay		
UI/mL	Valor Log ₁₀	Interpretación
No detectado	No detectado	DNA de BKV no detectado.
<162 detectados	<2,21	Se detecta DNA de BKV, pero a un nivel inferior al límite inferior de cuantificación (LIDC).
De 162 a 2,0E09	De 2,21 a 9,30	La concentración de DNA de BKV está dentro del rango cuantitativo entre LIDC y LSDC UI/mL.
>2,0E09	>9,30	La concentración de DNA de BKV es superior al límite superior de cuantificación (LSDC).
No válido ^a	No válido ^a	Hubo un error en la generación del resultado. Es necesario volver a analizar la muestra.

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

Limitaciones

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

Rendimiento

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

El límite de detección (LDD) del ensayo se define como la concentración de DNA de BKV que se detecta con una probabilidad de 95 % o superior según el documento EP17-A2 del CLSI.⁷

Límite de detección en plasma con la norma de la OMS

El LDD se determinó mediante el análisis de paneles de la 1.^a norma internacional de la OMS (código NIBSC 14/212) para BKV diluido en plasma humano negativo para BKV. Se analizaron veinte (20) réplicas con cada dilución de los tres lotes de reactivo para un total de 60 réplicas por dilución. Se realizó un análisis probit para generar los límites de detección previstos. Los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección previstos se definen como LDD y se muestran en la Tabla 4. El LDD del Panther Fusion BKV Quant Assay utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS es de 43,1 UI/mL para plasma.

Tabla 4: Límite de detección para plasma utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS para BKV

Límite de detección previsto	Concentración (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

Límite de detección en orina con la norma de la OMS

El LDD se determinó mediante el análisis de paneles de la 1.^a norma internacional de la OMS para BKV diluido en orina humana negativa para BKV. Se analizaron veinte (20) réplicas con cada dilución de los tres lotes de reactivo para un total de 60 réplicas por dilución. Se realizó un análisis probit para generar los límites de detección previstos. Los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección previstos se definen como LDD y se muestran en la Tabla 5. El LDD del Panther Fusion BKV Quant Assay utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS es de 143,6 UI/mL para orina.

Tabla 5: Límite de detección para orina utilizando la 1.ª norma internacional de la OMS para BKV

Límite de detección previsto	Concentración (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

Rango lineal

Rango lineal en plasma

El rango lineal se estableció analizando paneles de BKV diluidos en plasma humano negativo para BKV según el documento EP06-A del CLSI.⁸ Las concentraciones de los paneles fueron de 1,80 log UI/mL a 9,08 log UI/mL. El Panther Fusion BKV Quant Assay demostró linealidad en todo el rango analizado. El límite superior de cuantificación (LSDC) del ensayo es de 9,00 log UI/mL, como se muestra en la Figura 3.

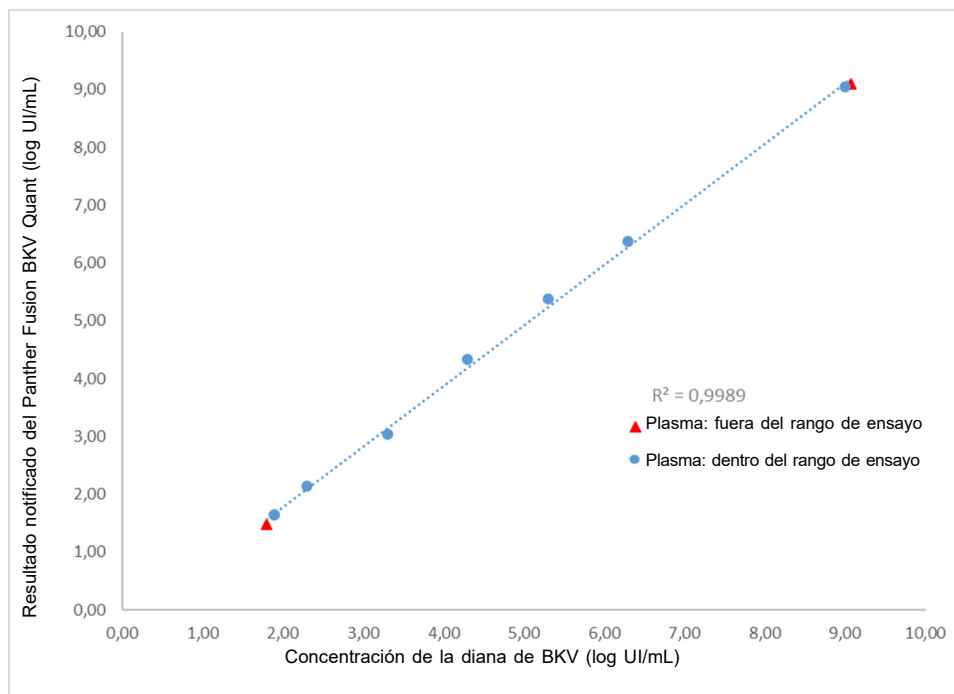


Figura 3. Linealidad en plasma

Rango lineal en orina

El rango lineal se estableció analizando paneles de BKV diluidos en orina humana negativa para BKV según el documento EP06-A del CLSI.⁸ Las concentraciones de los paneles fueron de 2,11 log UI/mL a 9,38 log UI/mL. El Panther Fusion BKV Quant Assay demostró linealidad en todo el rango analizado. El límite superior de cuantificación (LSDC) del ensayo es de 9,30 log UI/mL, como se muestra en la Figura 4.

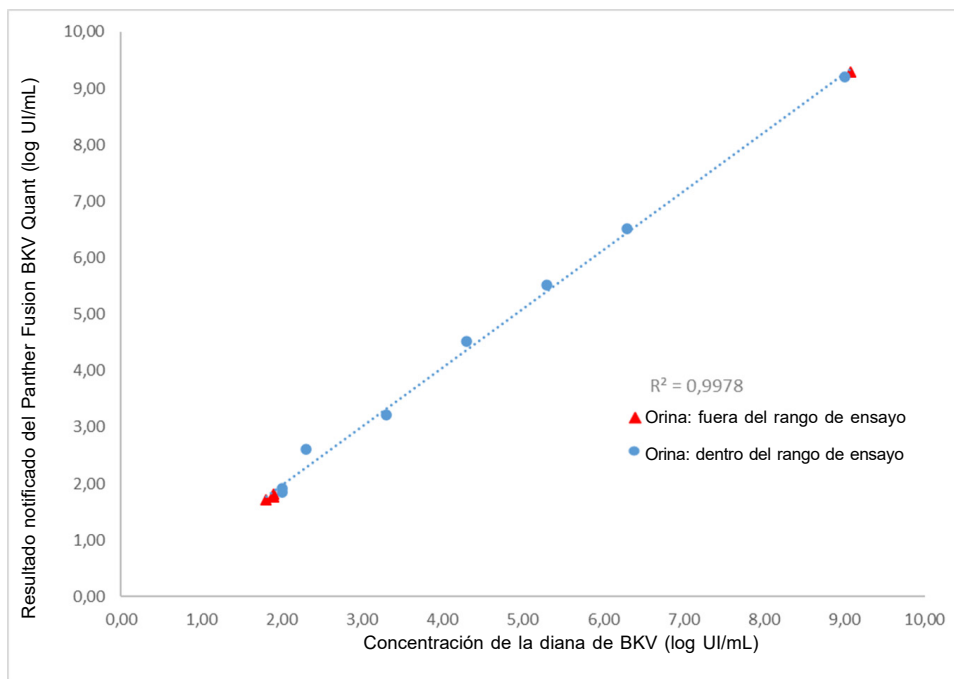


Figura 4. Linealidad en la orina

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

El límite inferior de cuantificación (LIDC) se define como la concentración más baja en la que se puede cuantificar BKV de forma fiable, según el documento EP17-A2 del CLSI.⁷ El error total se estimó usando el modelo Westgard: Error total (TE) = |sesgo| + 2 DE. Para garantizar la precisión y la exactitud de las medidas, el error total del Panther Fusion BKV Quant Assay se estableció en 1,2 log UI/mL, con un sesgo de exactitud y una desviación estándar que debe estar entre $\leq 0,5$ log UI/mL y $\leq 0,35$ log UI/mL respectivamente.

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

El LIDC se determinó mediante el análisis de paneles de la 1.ª norma internacional de la OMS (código NIBSC 14/212) para BKV diluido en plasma humano negativo para BKV. Se analizaron veinte (20) réplicas con cada dilución de los tres lotes de reactivo para un total de 60 réplicas por dilución. Los resultados del LIDC para los tres lotes de reactivos se muestran en la Tabla 6. El LIDC generado con la 1.ª norma internacional de la OMS para BKV en plasma es 79 UI/mL (1,90 log UI/mL).

Tabla 6: Determinación del LIDC utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS para BKV diluido en plasma

Lote de reactivo	N	N detectado	Concentración diana (log UI/mL)	BKV Quant Assay (log UI/mL)	DE (log UI/mL)	Sesgo (log UI/mL)	TE calculado (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

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

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

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

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

El LIDC se determinó mediante el análisis de paneles de la 1.^a norma internacional de la OMS (código NIBSC 14/212) para BKV diluido en orina humana negativa para BKV. Se analizaron veinte (20) réplicas con cada dilución de los tres lotes de reactivo para un total de 60 réplicas por dilución. Los resultados del LIDC para los tres lotes de reactivos se muestran en la Tabla 7. El LIDC generado con la 1.^a norma internacional de la OMS para BKV en orina es 162 UI/mL (2,21 log UI/mL).

Tabla 7: Determinación del LIDC utilizando la 1.ª norma internacional de la OMS para BKV diluido en orina

Lote de reactivo	N		Concentración	BKV Quant	DE	Sesgo	TE calculado
	N	detectado	diana (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

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

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

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

Confirmación del límite inferior de cuantificación en distintos genotipos de BKV

Límite inferior de cuantificación en distintos genotipos en plasma

Se evaluó el LIDC determinado con la norma de la OMS mediante el análisis de los genotipos I (1b-2) y IV del BKV enriquecidos a 3 veces el valor del LIDC en plasma humano negativo para BKV. Se analizaron 3 réplicas de cada muestra del panel con un lote de reactivos. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Confirmación del LIDC en distintos genotipos en plasma

Aislado (genotipo)	N		Concentración	BKV Quant	DE	Sesgo
	N	detectado	diana (log UI/mL)	Assay (log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
Genotipo I (1b-2)	3	3	2,37	2,59	0,08	0,2
Genotipo IV	3	3	2,37	2,25	0,05	0,1

DE = desviación estándar.

Límite inferior de cuantificación en distintos genotipos en orina

Se evaluó el LIDC determinado con la norma de la OMS mediante el análisis de las diluciones de los genotipos I (1b-2) y IV del BKV en orina humana negativa para BKV. Se analizaron 3 réplicas de cada muestra del panel con un lote de reactivos. Los resultados se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9: Confirmación del LIDC en distintos genotipos en orina

Aislado (genotipo)	N	N detectado	Concentración diana (log UI/mL)	BKV Quant Assay (log UI/mL)	DE (log UI/mL)	Sesgo (log UI/mL)
Genotipo I (1b-2)	3	3	2,69	2,43	0,27	0,0
Genotipo IV	3	3	2,69	2,57	0,16	0,2

DE = desviación estándar.

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

Se usó una serie de normas secundarias con concentraciones conocidas a lo largo del desarrollo y fabricación del producto para determinar la rastreabilidad con respecto a la norma de la OMS. La 1.^a norma internacional de la OMS de BKV se diluyó y analizó junto con las normas secundarias y los controles de ensayo, y se usaron calibradores en el Panther Fusion BKV Quant Assay para evaluar la rastreabilidad según el documento EP32-R del CLSI.⁹ Las concentraciones de las normas secundarias fueron de 2,30 a 6,30 log₁₀ UI/mL.

Rastreabilidad con respecto a la norma de la OMS utilizando plasma

Las concentraciones analizadas para la 1.^a norma de la OMS de BKV estuvieron entre 2,07 y 4,70 log UI/mL. La recuperación de los paneles de plasma de la OMS, las normas secundarias, los controles de ensayo y los calibradores de ensayo fue la esperada en el rango lineal del ensayo, como se puede observar en la Figura 5.

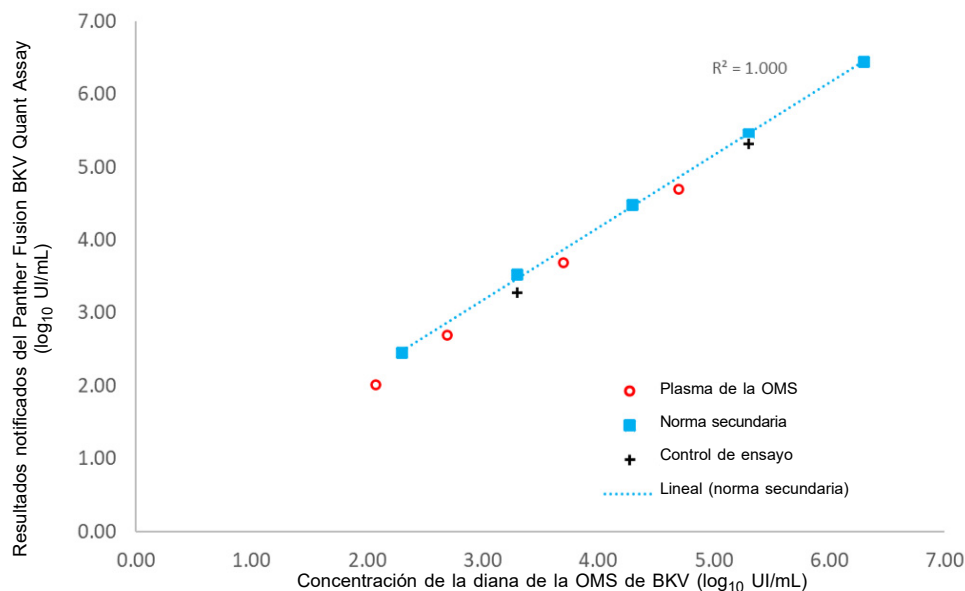


Figura 5. Rastreabilidad entre las concentraciones de la diana de la 1.^a norma de la OMS de BKV y las concentraciones notificados en el Panther Fusion BKV Quant Assay (norma de la OMS diluida en plasma)

Rastreabilidad con respecto a la norma de la OMS utilizando orina

Las concentraciones analizadas para la 1.^a norma de la OMS de BKV en orina estuvieron entre 2,38 y 5,00 log₁₀ UI/mL. La recuperación de los paneles de orina de la OMS, las normas secundarias, los controles de ensayo y los calibradores de ensayo fue la esperada en el rango lineal del ensayo, como se puede observar en la Figura 6.

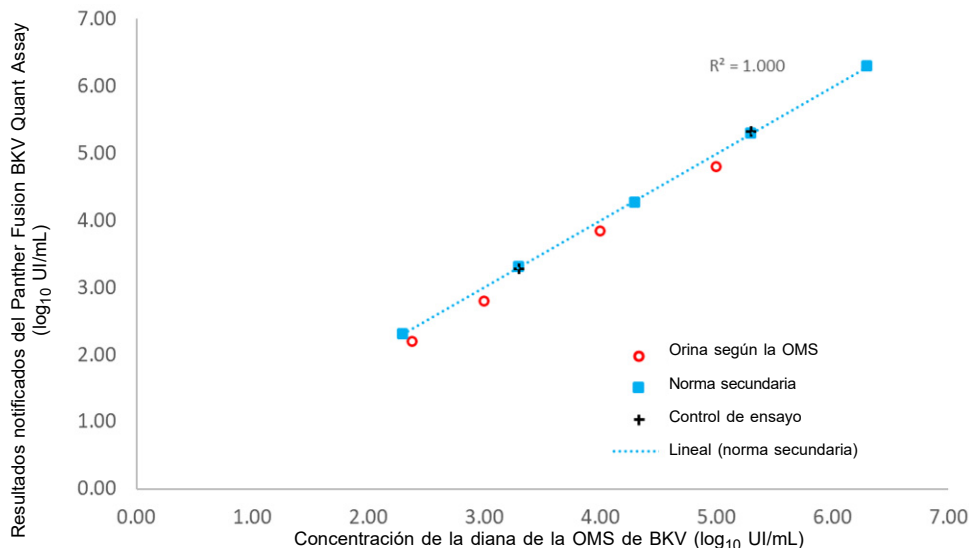


Figura 6. Rastreabilidad entre las concentraciones de la diana de la 1.^a norma de la OMS de BKV y las concentraciones notificadas en el Panther Fusion BKV Quant Assay (norma de la OMS diluida en orina)

Precisión intralaboratorio

Orina

Para analizar la precisión intralaboratorio, se efectuó un panel negativo y un panel de 3 muestras mediante la dilución de DNA de BKV en orina negativa para BKV. 2 usuarios analizaron los paneles positivos y negativos con 3 lotes de reactivos en 3 sistemas Panther Fusion System a lo largo de 6 días no consecutivos de análisis. Cada usuario ejecutó 2 ciclos al día y cada muestra del panel se analizó por triplicado en cada ciclo. El estudio se diseñó y analizó según las recomendaciones del documento EP-05-A3 del CLSI.¹⁰

En la Tabla 10, se indica la reproducibilidad de los resultados del ensayo (en log UI/mL) para el panel positivo entre instrumentos, usuarios, lotes de cartuchos, ciclos, días, en el ciclo y en total. La variabilidad total se debió principalmente a la variabilidad en el ciclo (es decir, debido al error aleatorio). Todas las réplicas del panel negativo fueron negativas.

Tabla 10: Reproducibilidad del Panther Fusion BKV Quant Assay en orina

N	Concentración media (log UI/mL)	Entre lotes	Entre instrumentos	Entre usuarios	Entre días	Entre ciclos	Intra-ciclo	Total
		DE	DE	DE	DE	DE	DE	DE
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

DE = desviación estándar.

Sustancias potencialmente interferentes

Se evaluó la susceptibilidad a la interferencia del Panther Fusion BKV Quant Assay debida a una cantidad elevada de sustancias endógenas, anticoagulantes y fármacos que se recetan usualmente a pacientes receptores de trasplantes. Se evaluó mediante matrices negativas para BKV en presencia o ausencia de 2,37 log UI/mL en plasma y de 2,69 log UI/mL de BKV en orina. Las concentraciones del análisis para cada una de las sustancias interferentes se seleccionó a partir de las referencias bibliográficas y directrices disponibles proporcionadas en los documentos EP07¹¹ y EP37¹² del CLSI.

No se observó ninguna interferencia en la exactitud de la cuantificación en muestras de plasma ni en muestras de orina en la presencia de las sustancias potencialmente interferentes enumeradas en la Tabla 11 y Tabla 12.

Tabla 11: Sustancias endógenas en el plasma

Sustancias potencialmente interferentes	Número de réplicas	Concentración analizada
Albúmina	3	6000 mg/dL
Bilirrubina conjugada	3	40 mg/dL
Hemoglobina	3	10 mg/dL
DNA genómico humano	3	0,2 mg/dL
Triglicéridos	3	3,45 mg/dL
Bilirrubina no conjugada	3	40 mg/dL

Tabla 12: Sustancias endógenas en la orina

Sustancias potencialmente interferentes	Número de réplicas	Concentración analizada
Albúmina	3	6000 mg/dL
Bilirrubina conjugada	3	40 mg/dL
Estradiol	3	8E-05 mg/dL
Glucosa	3	200 mg/dL
Mucina	3	6 mg/dL
Células mononucleares de sangre periférica	3	1E+06 células/mL
pH, ácido (HCl)	3	2 mM
pH, alcalino (NaOH)	3	0,2 mM
Semen	3	5 %
Sangre completa	3	2 %

No se observó ninguna interferencia en la exactitud de la cuantificación en la presencia de las sustancias exógenas enumeradas en la Tabla 13 y la Tabla 14.

Tabla 13: Sustancias exógenas en el plasma

Sustancias potencialmente interferentes	Número de réplicas	Concentración analizada
Aciclovir	3	6,6 mg/dL
Azatioprina	3	0,258 mg/dL
Cefotetán	3	71,1 mg/dL
Cidofovir	3	12,4 mg/dL
Clavulanato de potasio	3	1,47 mg/mL
Ciclosporina	3	0,180 mg/dL
Everolimus	3	0,0183 mg/dL
Fluconazol	3	2,55 mg/dL
Foscarnet	3	108 mg/dL
Ganciclovir	3	3,96 mg/dL
Letermovir	3	3,9 mg/dL
Micafungina	3	6,6 mg/dL
Micofenolato de mofetilo	3	18,1 mg/dL
Compuesto relacionado B de micofenolato de mofetilo	3	18,1 mg/dL
Naproxeno	3	36 mg/dL
Piperacilina	3	110 mg/dL
Prednisona	3	0,0099 mg/dL
Sirolimus	3	0,0213 mg/dL
Sulfametoxazol	3	35,7 mg/dL
Tacrolimus	3	0,0144 mg/dL
Tazobactam sódico	3	10,2 mg/dL
Ticarcilina disódica	3	151 mg/dL
Trimetoprima	3	4,2 mg/dL
Valganciclovir	3	4,83 mg/dL
Vancomicina	3	12 mg/dL

Tabla 14: Sustancias exógenas en la orina

Sustancias potencialmente interferentes	Número de réplicas	Concentración analizada
Paracetamol	3	3 mg/dL
Ácido acetilsalicílico	3	3 mg/dL
Clotrimazol	3	0,5 mg/dL
Ibuprofeno	3	21,9 mg/dL
Metronidazol	3	12,3 mg/dL
Naproxeno	3	36 mg/dL
Clorhidrato de fenazopiridina	3	79,5 mg/dL
Propilenglicol	3	130 mg/dL
Talco	3	5 mg/dL

Especificidad analítica

La posible reactividad cruzada a los microorganismos patógenos enumerados en la Tabla 15 se evaluó en matrices negativas para BKV en presencia o ausencia de 2,37 log UI/mL y 2,69 log UI/mL de BKV en plasma y orina, respectivamente. Se evaluaron los microorganismos patógenos en la mayor concentración disponible. No se observó reactividad cruzada ni interferencia en la exactitud de la cuantificación.

Tabla 15: Microorganismos patógenos comprobados para determinar la especificidad analítica

Microorganismo/patógeno	Concentración	Microorganismo/patógeno	Concentración
ADV-5	1,00E+05 TCID ₅₀ /mL	Virus del herpes humano 7	1,00E+03 TCID ₅₀ /mL
<i>Aspergillus niger</i>	1,00E+06 UFC/mL	Virus del herpes humano 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 CCU/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 humano 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

Tabla 15: Microorganismos patógenos comprobados para determinar la especificidad analítica (continuación)

Microorganismo/patógeno	Concentración	Microorganismo/patógeno	Concentración
HBV	1,00E+05 UI/mL	<i>Streptococcus bovis</i>	1,00E+06 UFC/mL
HCV	1,00E+04 UI/mL	<i>Streptococcus oralis</i>	1,00E+06 UFC/mL
HIV-1	1,00E+05 UI/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 UFC/mL
HIV-2	1,00E+04 UI/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 UFC/mL
VHS-1	1,00E+06 TCID ₅₀ /mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,00E+05 trofozoítos/mL
VHS-2	1,00E+04 TCID ₅₀ /mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1,00E+06 cp/mL
HPV-16 (células SiHa infectadas)	1,00E+05 células/mL	Virus varicela-zóster	1,00E+05 cp/mL
Virus del herpes humano 6	1,00E+05 cp/mL	—	—

CCU/mL = unidades de colonias cambiantes/mL

UFC/mL = unidades formadoras de colonias por mL.

cp/mL = copias víricas por mL.

UFI/mL = unidades formadoras de inclusión por mL.

UI/mL = unidades internacionales por mL.

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

Correlación de métodos

Este estudio se diseñó según el documento EP09c del CLSI.¹³

Correlación de métodos de plasma

Se comparó el rendimiento del Panther Fusion BKV Quant Assay con el de un ensayo comparador mediante el análisis de muestras recogidas retrospectivamente y muestras artificiales que abarcan todo el rango lineal. Se utilizó un total de 108 muestras dentro del intervalo lineal común a ambos ensayos para la regresión de Deming, tal como se muestra en la Figura 7.

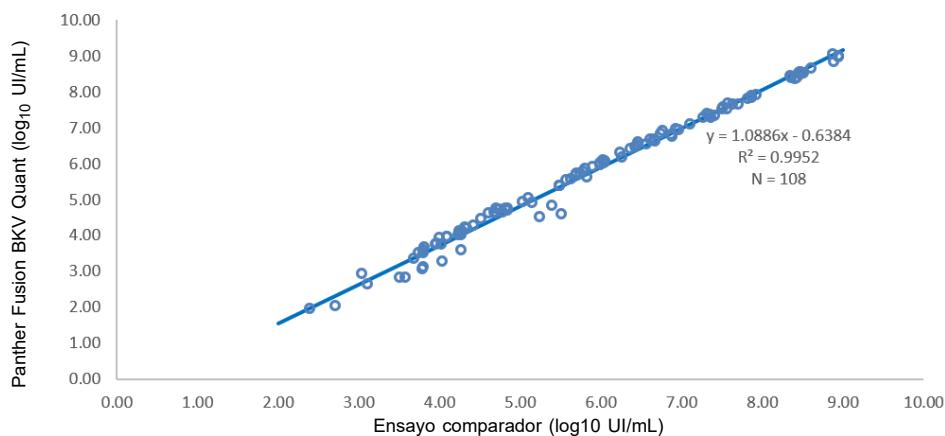


Figura 7. Correlación entre la carga vírica de BKV en el Panther Fusion BKV Quant Assay y el ensayo comparador en el análisis de muestras de plasma

Correlación de métodos de orina

Se comparó el rendimiento del Panther Fusion BKV Quant Assay con el de un ensayo comparador mediante el análisis de muestras recogidas retrospectivamente y muestras artificiales que abarcan todo el rango lineal. Se utilizó un total de 153 muestras dentro del intervalo lineal común a ambos ensayos para la regresión de Deming, tal como se muestra en la Figura 8.

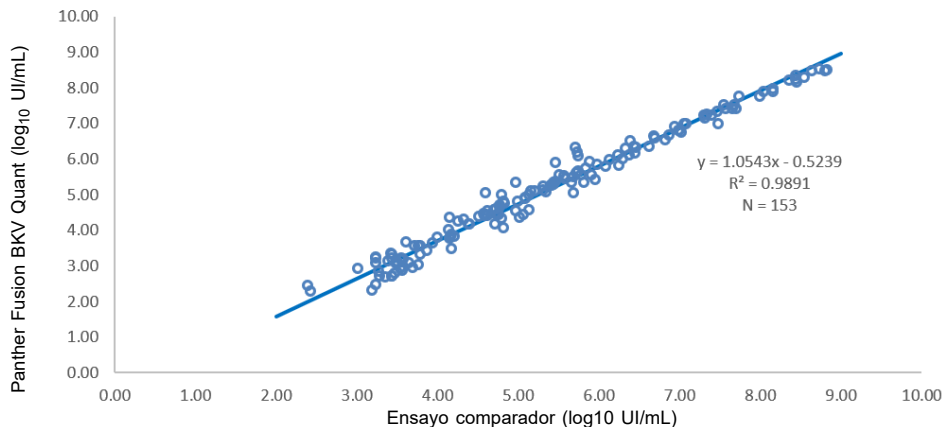


Figura 8. Correlación entre la carga vírica de BKV en el Panther Fusion BKV Quant Assay y el ensayo comparador en el análisis de muestras de orina

Arrastre/contaminación cruzada

La contaminación por arrastre se evaluó utilizando muestras de STM enriquecidas con BKV de título elevado (1,00E+09 UI/mL) entremezcladas con muestras negativas para BKV en un patrón de tablero de ajedrez. Las pruebas se realizaron en 5 ciclos. La tasa global de contaminación por arrastre fue del 0,00 % (0/150).

Bibliografía

1. Muhsin SA, Wojciechowski D. 2019. BK Virus In transplant recipients: current perspectives. *Transpl Res Risk Manag.* 11:47-58.
2. van Aalderen MC, Heutink 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. Instituto de estándares clínicos y de laboratorio. Document M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI Sitio web <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (4 de abril, 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. Documento EP05-03 del CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
11. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Interference Testing in Clinical Chemistry – Third Edition. Documento EP07 del CLSI, 3.ª ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

12. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. Documento EP37 del CLSI, 1.ª ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Documento EP09c del CLSI, 3.ª ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Información de contacto



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



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

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

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

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

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

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

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

©2022-2023 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-26020-301 Rev. 002
2023-12