

cobas[®] BKV

Kvantitativ nukleinsyretest til brug på cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

Til *in vitro*-diagnostik

cobas[®] BKV

P/N: 09040960190

Til brug på cobas[®] 5800 System

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Til brug på cobas[®] 6800/8800 Systems

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 eller
P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 eller
P/N: 09051953190

Indholdsfortegnelse

Tilsigtet brug	5
Oversigt og forklaring af testen	5
Reagenser og materialer	8
cobas® BKV-reagenser og -kontroller.....	8
cobas® omni-reagenser til prøveforberedelse.....	11
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	12
Krav til håndtering af reagenser for cobas® 5800 System.....	13
Krav til håndtering af reagenser for cobas® 6800/8800 Systems	13
Yderligere påkrævede materialer til cobas® 5800 System	14
Yderligere påkrævede materialer til cobas® 6800/8800 Systems.....	15
Påkrævede instrumenter og software	16
Krav til forholdsregler og håndtering	17
Advarsler og forholdsregler	17
Håndtering af reagenser	18
God laboratoriepraksis	18
Indsamling, transport og opbevaring af prøver.....	19
EDTA-plasmaprøver.....	19
Urinprøver	20
Brugsanvisning	21
Procedurebemærkninger.....	21
Kørsel af cobas® BKV på cobas® 5800 System	21
Kørsel af cobas® BKV på cobas® 6800/8800 Systems.....	23
Resultater	24
Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 5800 System	24
Kontrolresultater på cobas® 5800 System	24

Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas ® 6800/8800 Systems	24
Kontrolmarkeringer på cobas ® 6800/8800 Systems	25
Fortolkning af resultater	25
Fortolkning af resultater på cobas ® 5800 System.....	26
Fortolkning af resultater på cobas ® 6800/8800 Systems	26
Begrænsninger ved procedurerne	26
Evaluering af ikke-klinisk performance	27
Vigtige egenskaber for performance for EDTA-plasmaprøvetypen udført på cobas ® 6800/8800 Systems.....	27
Detektionsgrænse (LoD) WHO's internationale standard	27
Lineært interval.....	28
Præcision – intra-laboratorium	29
Bekræftelse af undertype.....	30
Specificitet.....	30
Analytisk specificitet.....	30
Analytisk specificitet – interfererende stoffer	32
Metodekorrelation.....	32
Systemfejlfrekvens	33
Krydskontaminering	33
Vigtige egenskaber for performance for urinprøvetypen udført på cobas ® 6800/8800 Systems	34
Detektionsgrænse (LoD) WHO's internationale standard	34
Lineært interval.....	35
Præcision – intra-laboratorium	36
Bekræftelse af undertype.....	37
Specificitet.....	37
Analytisk specificitet.....	37
Analytisk specificitet – interfererende stoffer	38
Metodekorrelation.....	40
Krydskontaminering	40

Evaluering af klinisk performance udført på cobas® 6800/8800 Systems 41

Reproducerbarhed af cobas® BKV for EDTA-plasmaprøvetypen	41
Performance for cobas® BKV for EDTA-plasmaprøvetypen.....	42
Reproducerbarhed af cobas® BKV for den stabiliserede urinprøvetype	44
Performance for cobas® BKV for den stabiliserede urinprøvetype.....	45
Systemækvivalens/systemsammenligning	47

Yderligere oplysninger..... 48

Vigtige testfunktioner	48
Symboler	49
Teknisk support.....	50
Producent og importør.....	50
Varemærker og patenter	50
Copyright.....	50
Referencer.....	51
Dokumentrevision	52

Tilsigtet brug

cobas® BKV er en *in vitro*-nukleinsyreamplifikationstest til kvantificering af BK-virus (BKV) DNA i humant EDTA-plasma og urin stabiliseret i **cobas® PCR Media**.

I EDTA-plasma er **cobas® BKV** beregnet som en hjælp ved diagnostik og behandling af BKV hos transplanterede patienter. Hos patienter, der overvåges for BKV i EDTA-plasma, kan man bruge serielle DNA-målinger til indikation af behovet for eventuelle behandlingsændringer og til vurdering af virusresponsen på behandlingen.

I urin stabiliseret i **cobas® PCR Media** er **cobas® BKV** beregnet som en hjælp ved diagnostik og behandling af BKV hos transplanterede patienter.

Resultaterne fra **cobas® BKV** skal fortolkes på baggrund af alle relevante kliniske og laboratoriemæssige fund.

cobas® BKV er ikke beregnet til brug som en screeningstest til blod eller blodprodukter.

Oversigt og forklaring af testen

Baggrund

Transplanterede patienter har en øget risiko for at få flere virus- og bakterieinfektioner med dertilhørende øget sandsynlighed for alvorlige, negative sundhedsfølgevirkninger for gruppen af transplanterede patienter sammenlignet med den generelle sunde befolkningsgruppe. Denne øgede risiko skyldes delvist den reducerede immunsystemfunktion pga. den immunsupprimerende medicin, som transplanterede patienter får for at reducere risikoen for transplantatafstødning.^{1,2}

BK-virus (BKV) er en lille (~5 kb), ikke-kapbebærende deoxyribonukleinsyrevirus (DNA-virus), der tilhører polyoma-virus-familien. Der er fire BKV-hovedundertyper, hvoraf undertype I er den mest almindeligt påviste (80 %) efterfulgt af undertype IV (15 %).³ BKV seroprævalens er > 80 % i den generelle sunde, voksne befolkningsgruppe.⁴ Hos immun-kompetente personer er BKV ikke forbundet med signifikant patologi. BKV-infektion kan dog forårsage alvorlig klinisk sygdom hos immunkompromitterede patienter, herunder transplanterede patienter.⁵

BKV-infektioner er mest almindeligt forekommende i nyrerne og urinvejene. Efter en primær infektion forbliver virus latent i det renale tubulære epitel og uretere epitel og kan blive reaktiveret hos immunkompromitterede personer. Nyretransplanterede patienter har større risiko for BKV-relaterede komplikationer sammenlignet med personer med andre transplantationstyper, herunder PVN (Polyoma Virus Nephropathy) og ureter stenose. PVN forekommer hos op til 10 % af de nyretransplanterede patienter, og ca. 50 % af de PVN-berørte patienter oplever problemer ifm. med implantation af transplantater. Derudover udvikler ca. 3 % af de nyretransplanterede patienter BKV-relateret ureter stenose.⁵ Hæmatopoietisk stamcelletransplanterede patienter (HSCT-patienter) oplever også BKV-relaterede komplikationer med en højere hyppighed – mest almindeligt i form af hæmoragisk cystitis (HC). Mellem 5 til 15 % af HSCT-patienterne oplever HC.¹

Retningslinjerne anbefaler regelmæssig BKV-monitorering af nyretransplanterede patienter i op til 5 år efter transplantationen.⁶ En sådan monitoreringstilgang kan identificere 80-90 % af de patienter, der har risiko for PVN. Test af plasma for BKV-viræmi anbefales som en del af strategien til identifikation af patienter med øget risiko for PVN, enten som en bekræftende test for de patienter, der er påvist BKV-viræmi for, eller som den primære testmetode ved rutinemæssig screening.⁶ Der findes i øjeblikket ingen anbefalinger for rutinemæssig BKV-monitorering for HSCT-patienter,

og test anbefales primært til evalueringen af patienter med hæmaturi og kliniske symptomer på cystitis. Et BKV DNA-niveau på mere end 10.000 kopier/ml er forbundet med en større risiko for HC hos transplanterede patienter.⁷

For nyretransplanterede patienter, som har en vedvarende forhøjelse af plasma-BKV DNA-niveauer, der normalt defineres som en måling med mere end 10.000 kopier/ml, anbefales test af plasma for BKV hver 1-2 uger, indtil DNA-niveauet ikke længere kan detekteres ved to på hinanden følgende målinger.

Mange laboratorietest til BKV-kvantificering er ikke standardiseret, hvilket resulterer i stor variabilitet mellem laboratorier og analyser.^{6,7} Derudover kan urinbestanddele forårsage BKV-aggregation, som også kan påvirke den kvantitative variabilitet.^{8,9} Formel vurdering af reproducerbarheden og validiteten af BKV DNA-niveauer er afgørende for at sikre konsistens mellem resultaterne (uanset hvilket laboratorium analysen blev udført på) ved klinisk behandling af patienter med BKV-relaterede sygdomme.

Selvom den præcise medicinsk relevante virusgrænse stadig er til debat pga. variabilitet mellem analyserne, synes konceptet med den kritiske grænse at være validt og er beskrevet i undersøgelser af den naturlige historik, der viser, at højere BKV DNA-niveauer er forbundet med øget risiko for udviklingen af PVN og HC.^{6,7}

Begrundelse for NAT-test

Polyoma-virusserologi bruges ikke rutinemæssigt i kliniske miljøer. Det har kun værdi til påvisning af, om en patient tidligere har været smittet med BKV og har risiko for reaktivering. Der er lang svartid ved virusdyrkningsmetoder, og da de samtidigt er semi-kvantitative, er de af begrænset værdi til anvendelse for immunkompromitterede patienter, hvor det er normalt med lave virusniveauer. Direkte detektion af BKV DNA med real-time PCR-metoder tilbyder potentielt et bredt dynamisk område, præcision samt optimal sensitivitet og specificitet til brug til transplanterede patienter.

Forklaring af testen

cobas® BKV er en kvantitativ test, der kører på **cobas®** 5800/6800/8800 Systems. **cobas®** BKV giver mulighed for detektion og kvantificering af BKV DNA i EDTA-plasma og urin stabiliseret i **cobas®** PCR Media fra inficerede patienter. BKV DNA-niveauet kvantificeres mod en ikke-BKV DNA-kvantificeringsstandard (DNA-QS), som tilsættes i hver prøve under prøvebehandlingen. DNA-QS fungerer også som overvågning af hele prøveforberedelsen og PCR-amplifikationsprocessen. Derudover bruger testen tre eksterne kontroller: en høj titer-positiv, en lav titer-positiv og en negativ kontrol. De høje og lave positive eksterne kontroller fremstilles med fortynding af stammemateriale med en titer, der er baseret på BKV WHO International Standard. Hvert amplifikations-/detektionskitlot kalibreres baseret på BKV WHO International Standard.

Principper for proceduren

cobas® BKV er baseret på en fuldt automatiseret prøveforberedelse (ekstrahering af nukleinsyrer og oprensning) efterfulgt af PCR-amplifikation og detektion. **cobas®** 5800 System er udviklet som ét integreret instrument. **cobas®** 6800/8800 Systems består af prøveforsyningsmodulet, transfermodulet, processeringsmodulet og analysemodulet. Automatiseret dataadministration udføres ved hjælp af **cobas®** 5800 eller **cobas®** 6800/8800 System-softwaren, som tilknytter testresultater til alle test som enten "Target Not Detected", BKV DNA påvist < LLoQ (nedre kvantificeringsgrænse), BKV DNA påvist > ULoQ (øvre kvantificeringsgrænse) eller en værdi i det lineære interval $LLoQ < x < ULoQ$. Resultaterne kan gennemses direkte på skærmen, eksporteres eller udskrives i en rapport.

Nukleinsyrer fra patientprøver og tilsatte lambda-DNA-QS-molekyler ekstraheres samtidigt. De virale nukleinsyrer frigives derefter ved tilsætning af proteinase og lysisreagens i prøven. De frigivne nukleinsyrer binder sig til silicium-overfladen på de tilsatte magnetiske glaspartikler. Ubundne stoffer og urenheder, som f.eks. denaturerede proteiner, cellerester og potentielle PCR-hæmmere, fjernes efterfølgende med vaskereagenstrin, og de oprensede nukleinsyrer elueres fra de magnetiske glaspartikler med elueringsbuffer ved forhøjet temperatur.

Selektiv amplifikation af target-nukleinsyren fra prøven opnås ved brug af en dual target-virusspecifik metode baseret på de bedst konserverede områder i BKV, der findes i det lille BKV t-antigen-område og BKV VP2-området. Selektiv amplifikation af DNA-QS opnås ved brug af sekvensspecifikke forward og reverse primere, som vælges for ikke at have nogen homologi med BKV-genomet. Der anvendes et termostabilt DNA-polymerase-enzym til amplifikation. Target- og DNA-QS-sekvenserne amplificeres samtidigt ved hjælp af en universel PCR-amplifikationsprofil med foruddefinerede temperaturtrin og cyklusantal. Master mix'et indeholder deoxyuridintrifosfat (dUTP) i stedet for deoxythymidin-trifosfat (dTTP), som inkorporeres i det nyligt syntetiserede DNA (amplikon).¹⁰⁻¹² Ethvert kontaminerende amplikon fra tidligere PCR-kørsler elimineres af AmpErase-enzymet, som er inkluderet i PCR-mixet, ved opvarmning under den første termiske cyklus. Nyligt dannet amplikon elimineres dog ikke, da AmpErase-enzymet inaktiveres, når det udsættes for temperaturer over 55 °C.

cobas® BKV master mix indeholder to detektionsprober, der er specifikke for BKV-targetsekvenser, og én specifik for DNA-QS. Proberne er mærket med target-specifikke fluorescerende rapportfarvestoffer, hvilket giver mulighed for samtidig detektion af BKV-target og DNA-QS i to forskellige targetkanaler.^{13, 14} Fluorescenssignalet i de intakte prober undertrykkes af quencherfarvestoffet. Under PCR-amplifikationstrinnet medfører hybridiseringen af proben til de specifikke enkeltstrengede DNA-templates en kløvning vha. 5'-til-3'-nukleaseaktiviteten i DNA-polymerasen, hvilket resulterer i separation af rapport- og quencherfarvestofferne og derved generering af et fluorescenssignal. For hver PCR-cyklus genereres øgede mængder af kløvede prober, og det samlede signal fra rapportfarvestoffet forøges tilsvarende. Der opnås real-time detektion og diskrimination af PCR-produkter ved at måle fluorescensen i de frigivne rapportfarvestoffer for virustargets og DNA-QS.

Reagenser og materialer

cobas® BKV-reagenser og -kontroller

De medfølgende materialer til cobas® BKV findes i Tabel 1. Nødvendige men ikke medfølgende materialer findes i Tabel 2 til og med Tabel 4 samt Tabel 8 til og med Tabel 10.

Se afsnittet **Reagenser og materialer** og afsnittet **Krav til forholdsregler og håndtering** for at få oplysninger om farer ved produktet.

Tabel 1 cobas® BKV

cobas® BKV

Opbevares ved 2-8 °C.

Kassette med 192 tests (P/N 09040960190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit 192 tests
Proteinaseopløsning (PASE)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % proteinase, glycerol EUH210: Sikkerhedsdatablad kan på anmodning rekvireres. EUH208: Indeholder subtilisin fra <i>Bacillus subtilis</i> . Kan udløse allergisk reaktion.	22,3 ml
DNA-kvantificeringsstandard (DNA QS)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ikke-BKV DNA-konstruktion indeholdende ikke-BKV-primerbinding og et unikt probeområde (ikke-infektøs DNA), < 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffer (EB)	Tris-buffer, 0,2 % methyl-4 hydroxybenzoat	21,2 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
BKV Master Mix-reagens 2 (BKV MMX-R2)	Tricinbuffer, kaliumacetat, < 18 % dimethylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % upstream- og downstream-BKV-primere, < 0,01 % kvantificeringsstandard forward og reverse primere, < 0,01 % fluorescensmærkede oligonukleotidprober, der er specifikke for BKV og BKV-kvantificeringsstandard, < 0,01 % oligonukleotid aptamer, < 0,01 % Z05D DNA-polymerase, < 0,10 % AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) (mikrobielt), < 0,1 % natriumazid	9,7 ml

Tabel 2 cobas® EBV/BKV Control Kit**cobas® EBV/BKV Control Kit**

Opbevares ved 2-8 °C

Til brug på cobas® 5800 System (P/N 09040951190)

Til brug på cobas® 6800/8800 Systems (P/N 08688214190 eller P/N 09040951190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel*
EBV/BKV lav positiv kontrol (EBV/BKV L(+))C)	< 0,001 % syntetisk (plasmid) BKV DNA indkapslet i Lambda-bakteriofag proteinkappe, normalt humant plasma, BKV DNA, som ikke kan påvises ved hjælp af PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300-konserveringsmiddel**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/ spray. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmottagelsesanlæg. 55965-84-9 Reaktionsmasse på: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).
EBV/BKV høj positiv kontrol (EBV/BKV H(+))C)	< 0,001 % syntetisk (plasmid) BKV DNA indkapslet i Lambda-bakteriofag proteinkappe, normalt humant plasma, BKV DNA, som ikke kan påvises ved hjælp af PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300-konserveringsmiddel**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/ spray. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmottagelsesanlæg. 55965-84-9 Reaktionsmasse på: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Biologisk farlig substans eller blanding.

Tabel 3 cobas® Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Opbevares ved 2-8 °C

Til brug på cobas® 5800 System (P/N 09051953190)

Til brug på cobas® 6800/8800 Systems (P/N 07002238190 eller P/N 09051953190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tris-buffer, < 0,1 % natriumazid, EDTA, 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk)	16 ml (16 × 1 ml)

cobas® omni-reagenser til prøveforberedelse

Tabel 4 cobas® omni-reagenser til prøveforberedelse

Reagenser	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiske glaspartikler, Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	480 tests	Ikke relevant
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997511190)	Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ikke relevant
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997538190)	43 % (w/w) guanidinthiocyanat**, 5 % (w/v) polidocanol**, 2 % (w/v) dithiothreitol**, natriumcitratdihydrat EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre.	4 × 875 ml	 FARE H302 + H332: Farlig ved indtagelse eller indånding. H314: Forårsager svære ætsninger og øjenskader. H411: Giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand. P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejrtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P391: Udslip opsamles. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Opbevares ved 15-30 °C (P/N 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat	4,2 l	Ikke relevant

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Biologisk farlig substans eller blanding.

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

Reagenser skal opbevares og håndteres som angivet i Tabel 5, Tabel 6 og Tabel 7.

Når reagenserne ikke er indsat på **cobas®** 5800 System eller **cobas®** 6800/8800 Systems, skal de opbevares ved den temperatur, der er angivet i Tabel 5.

Tabel 5 Opbevaring af reagenser (når reagenset ikke er på systemet)

Reagens	Opbevaringstemperatur
cobas® BKV	2-8 °C
cobas® EBV/BKV Control Kit	2-8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2-8 °C
cobas® omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas® omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas® omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas® omni Wash Reagent	15-30 °C

Krav til håndtering af reagenser for cobas® 5800 System

Reagenser, der er indsat på cobas® 5800 System, opbevares ved de relevante temperaturer, og deres udløbsdato overvåges af systemet. Systemet giver kun mulighed for brug af reagenserne, hvis alle de betingelser, der vist i Tabel 6, overholdes. Systemet forhindrer automatisk brugen af udløbne reagenser. Tabel 6 giver brugeren mulighed for at få et indblik i de betingelser for reagenshåndtering, der håndhæves af cobas® 5800 System.

Tabel 6 Udløbsbetingelser for reagenser som håndhævet af cobas® 5800 System

Reagens	Udløbsdato for kittet	Holdbarhed for åbent kit	Antal kørsler, som dette kit kan bruges i	Holdbarhed på systemet
cobas® BKV	Dato ikke overskredet	90 dage fra første brug	Maks. 40 kørsler	Maks. 36 dage**
cobas® EBV/BKV Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant*	Ikke relevant	Maks. 36 dage**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant*	Ikke relevant	Maks. 36 dage**
cobas® omni Lysis Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning**	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas® omni MGP Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning**	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas® omni Specimen Diluent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning**	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas® omni Wash Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning**	Ikke relevant	Ikke relevant

* Reagenser til engangsbrug.

** Tiden måles fra første gang, det pågældende reagens indsættes på cobas® 5800 System.

Krav til håndtering af reagenser for cobas® 6800/8800 Systems

Reagenser, der er indsat på cobas® 6800/8800 Systems, opbevares ved de relevante temperaturer, og deres udløbsdato overvåges af systemet. cobas® 6800/8800 Systems giver kun mulighed for brug af reagenserne, hvis alle de betingelser, der er vist i Tabel 7, overholdes. Systemet forhindrer automatisk brugen af udløbne reagenser. Tabel 7 giver brugeren mulighed for at få et indblik i de betingelser for reagenshåndtering, der håndhæves af cobas® 6800/8800 Systems.

Tabel 7 Udløbsbetingelser for reagenser som håndhævet af cobas® 6800/8800 Systems

Reagens	Udløbsdato for kittet	Holdbarhed for åbent kit	Antal kørsler, som dette kit kan bruges i	Holdbarhed på systemet (samlet tid på systemet uden for køleskab)
cobas® BKV	Dato ikke overskredet	90 dage fra første brug	Maks. 40 kørsler	Maks. 40 timer
cobas® EBV/BKV Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant*	Ikke relevant	Maks. 8 timer
cobas® Buffer Negative Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant*	Ikke relevant	Maks. 10 timer
cobas® omni Lysis Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning**	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas® omni MGP Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning**	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas® omni Specimen Diluent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning**	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas® omni Wash Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning**	Ikke relevant	Ikke relevant

* Reagenser til engangsbrug

** Tiden måles fra første gang, det pågældende reagens indsættes på cobas® 6800/8800 Systems.

Yderligere påkrævede materialer til cobas® 5800 System

Tabel 8 Materialer og forbrugsartikler til brug på cobas® 5800 System

Materiale	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Tip CORE TIPS with Filter, 1 ml	04639642001
Tip CORE TIPS with Filter, 300 µl	07345607001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Pose til fast affald eller Pose til fast affald med indsats	07435967001 eller 08030073001
cobas® omni Secondary Tubes 13 × 75 (valgfrit)	06438776001
cobas® PCR Media Secondary Tube Kit*	07958048190
cobas® PCR Media Tube Replacement Cap Kit	07958056190
cobas® PCR Media Disposable Tube Stand (valgfrit)	07958064190
MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 2001-2050*,**	03143449001
RD5 RACK – RD Standard rack 0001-0050 LR*,**	11902997001
16-positions rør-carrier*	09224319001
5-positions rack-carrier*	09224475001

* Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få en detaljeret ordreliste over prøveracks.

** MPA 16 mm-racket eller den 16-positions rør-carrier er de foretrukne racks til brug med prøver, der er indsamlet i cobas® PCR Media-rør.

Yderligere påkrævede materialer til cobas® 6800/8800 Systems

Tabel 9 Materialer og forbrugsartikler til brug på cobas® 6800/8800 Systems

Materiale	P/N
cobas® omni Processing Plate	05534917001
cobas® omni Amplification Plate	05534941001
cobas® omni Pipette Tips	05534925001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Pose til fast affald og beholder til fast affald eller Pose til fast affald med indsats og kitskuffe til fast affald – opdateret version	07435967001 og 07094361001 eller 08030073001 og 08387281001
cobas® omni Secondary Tubes 13 × 75 (valgfrit)	06438776001
cobas® PCR Media Secondary Tube Kit*	07958048190
cobas® PCR Media Tube Replacement Cap Kit	07958056190
cobas® PCR Media Disposable Tube Stand (valgfrit)	07958064190
MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 2001-2050*, **	03143449001

* Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få en detaljeret ordreliste til prøveracks, racks til clottede spidser og rackbakker, der er godkendt på instrumenterne.

** MPA 16 mm-racks er de foretrukne racks til brug med prøver, der er indsamlet i cobas® PCR Media-rør.

Tabel 10 Urinprøvetagningskit til brug med cobas® BKV

Prøvetagningskit	P/N
cobas® PCR Urine Sample Kit	05170486190
cobas® PCR Media Kit	06466281190

Bemærk! cobas® PCR-urinprøvekit bruges til at tage og transportere urinprøver. Hvert cobas® PCR-urinprøvekit indeholder 100 cobas® PCR-urinprøvepakker. Hver pakke indeholder 1 engangspipette og 1 cobas® PCR Media-rør med 4,3 ml cobas® PCR Media. cobas® PCR Media fungerer som et nukleinsyrestabiliserende transport- og opbevaringsmedie til urinprøver.

For urinprøver, der sendes direkte til laboratoriet uden brug af cobas® PCR-urinprøvekittet ved indsamling, kan cobas® PCR Media-kittet med 100 cobas® PCR Media-rør (uden engangspipetter) bruges som et alternativ under den forudsætning, at urinprøven overføres inden for 24 timer fra indsamlingen.

Påkrævede instrumenter og software

cobas® 5800-softwaren og **cobas®** BKV-analysepakken til **cobas®** 5800 System skal installeres på **cobas®** 5800-instrumentet. Data Manager-softwaren og pc'en til **cobas®** 5800 System følger med systemet.

cobas® 6800/8800-softwaren og **cobas®** BKV-analysepakken skal være installeret på instrumentet eller instrumenterne. IG-serveren (Instrument Gateway-serveren) følger med systemet.

Tabel 11 Instrumenter

Udstyr	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (flytbar systemopsætning)	05524245001 og 06379672001
cobas® 6800 System (fast)	05524245001 og 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Prøveforsyningsmodul	06301037001

Se brugerassistenten og/eller brugervejledningen til **cobas®** 5800 System eller **cobas®** 6800/8800 Systems for at få yderligere oplysninger.

Bemærk! Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få en detaljeret ordreliste til primære og sekundære prøverør, til prøveracks, racks til clottede spidser og rackbakker, der er godkendt på instrumenterne.

cobas® BKV accepterer de primære rør, der bruges til urinprøvetyper, som er indsamlet i **cobas®** PCR Media.

Krav til forholdsregler og håndtering

Advarsler og forholdsregler

Som ved alle testprocedurer er det vigtigt med god laboratoriepraksis, for at analysen skal kunne fungere korrekt. På grund af testens høje sensitivitet skal man være omhyggelig med at undgå, at reagenser og amplifikationsblandinger kontamineres.

- Kun til *in vitro*-diagnostik brug.
- **cobas® BKV** er ikke blevet evalueret til brug som en screeningstest for tilstedeværelsen af BKV i blod eller blodprodukter.
- Alle patientprøver skal håndteres som smittefarligt materiale ved brug af gode laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories og i CLSI-dokumentet M29-A4.^{15, 16} Denne procedure må kun udføres af medarbejdere, der er uddannet i brugen af **cobas® BKV** og **cobas® 5800/6800/8800 Systems**.
- Alt materiale, der stammer fra mennesker, skal betragtes som potentielt smittefarligt og skal håndteres med generelle sikkerhedsforanstaltninger. Hvis der spildes materiale, skal det berørte område straks desinficeres med en nyfremstillet 0,6 % opløsning af natrium- eller kaliumhypoklorit i destilleret eller deioniseret vand, eller de relevante procedurer for laboratoriet skal følges.
- **cobas® EBV/BKV-kontrolkittet** indeholder plasma, der stammer fra humant blod. Kildematerialet er blevet testet ved hjælp af PCR-metoder og viste acceptable spor af lave niveauer af BKV DNA. Ingen kendte testmetoder kan helt udelukke, at produkter, der stammer fra humant blod, kan overføre smitstoffer.
- **Fuldblod eller urinprøver, der er opbevaret i primære rør, må ikke nedfryses.**
- Brug kun medfølgende eller specificerede forbrugsartikler for at sikre testens optimale performance.
- Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS'er) ved henvendelse til den lokale Roche-repræsentant.
- Følg de angivne procedurer og retningslinjer nøje, så testen udføres korrekt. Eventuelle afvigelser fra procedurerne og retningslinjerne kan påvirke den optimale performance for testen.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis krydskontaminering ikke kontrolleres tilstrækkeligt under håndtering og behandling af prøver.
- **cobas® PCR Media** (fra primært prøverør) indeholder guanidinhydroklorid. **Undgå direkte kontakt mellem guanidinhydroklorid og natriumhypoklorit (blegemiddel) eller andre stærkt reaktive reagenser som syrer eller baser. Disse blandinger kan frigive en giftig gas.** Rengør med egnet laboratorierengøringsmiddel og vand, hvis der spildes væske, som indeholder guanidinhydroklorid. Hvis den spildte væske indeholder potentielt smittefarlige stoffer, skal det berørte område **FØRST** rengøres med laboratorierengøringsmiddel og vand og derefter med 0,6 % natrium- eller kaliumhypoklorit.
- Informer den lokale kompetente myndighed og producent om eventuelle alvorlige hændelser, der kan opstå ved brug af denne analyse.

Håndtering af reagenser

- Håndter alle reagenser, kontroller og prøver i overensstemmelse med god laboratoriepraksis for at undgå krydskontaminering af prøver eller kontroller.
- Inspicer hver reagenskassette, diluent, lysisreagens og vaskereagens visuelt før brug for at sikre, at der ikke er tegn på utætheder. Materialet må ikke anvendes til test, hvis der er tegn på utætheder.
- **cobas® omni** Lysis Reagent indeholder guanidinthiocyanat, der er et potentielt farligt kemikalie. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger.
- **cobas®** BKV-testkit, **cobas® omni** MGP Reagent og **cobas® omni** Specimen Diluent indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger. Hvis disse reagenser spildes, fortyndes med vand, før de tørres op.
- **cobas® omni** Lysis Reagent, som indeholder guanidinthiocyanat, må ikke komme i kontakt med natriumhypoklorit (blegemiddel). Denne blanding kan danne en meget giftig gas.
- Alt materiale, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.

God laboratoriepraksis

- Brug ikke mundpipettering.
- Der må ikke spises, drikkes eller ryges i de angivne arbejdsområder.
- Anvend beskyttelseshandsker, særligt arbejdstøj og øjenbeskyttelse ved håndtering af prøver og reagenser. Handskerne skal skiftes mellem håndtering af prøver og **cobas®** BKV kit, EBV/BKV svagt positiv kontrol (EBV/BKV L(+))C), EBV/BKV høj positiv kontrol (EBV/BKV H(+))C), **cobas®** Buffer Negative Control Kit og **cobas® omni**-reagenser for at forhindre kontaminering. Undgå at kontaminere handsker ved håndtering af prøver og kontroller.
- Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser og efter aftagning af handskerne.
- Rengør og desinficer alle arbejdsflader i laboratoriet grundigt med blegemiddel fortyndet med deioniseret eller destilleret vand til en 0,6 % opløsning af natrium- eller kaliumhypoklorit. Opløsningen skal være nyfremstillet. Tør overfladen efter med 70 % ethanol.
- Hvis der spildes materiale på **cobas®** 5800- eller **cobas®** 6800/8800-instrumentet, skal anvisningerne i brugervejledningen og/eller brugerassistenten til **cobas®** 5800 eller **cobas®** 6800/8800 Systems følges for korrekt rengøring og dekontaminering af instrumentoverfladerne.

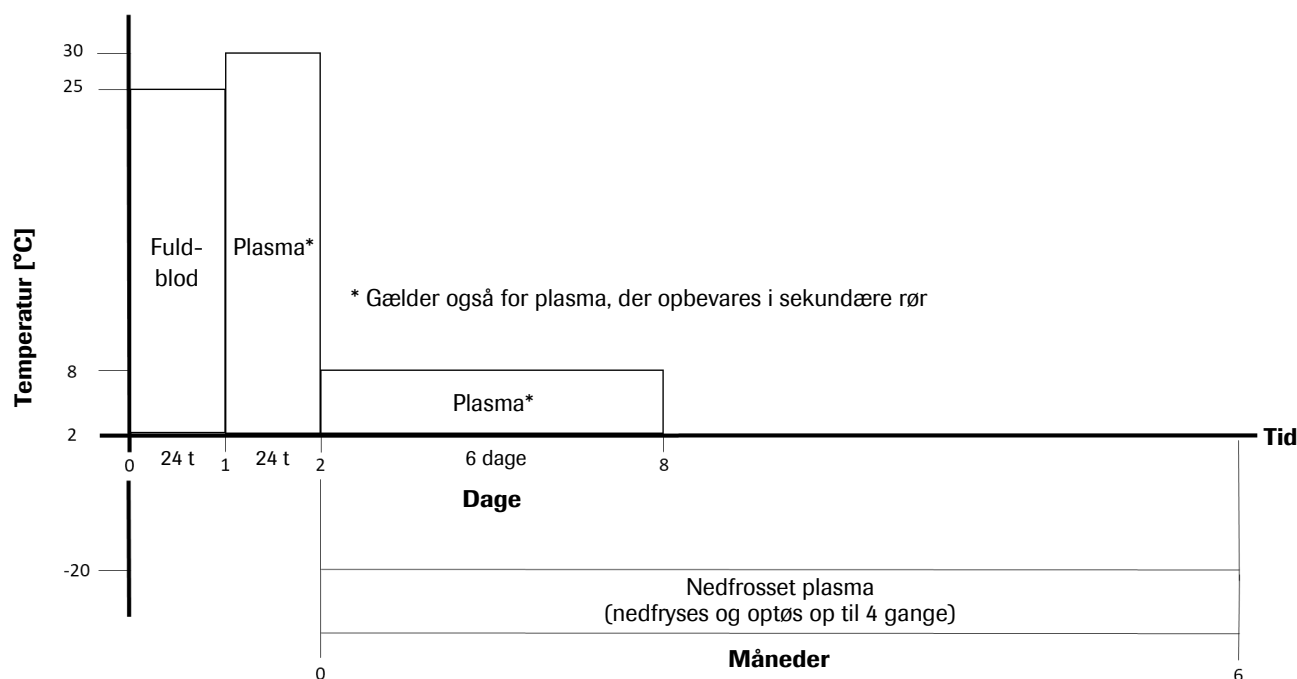
Indsamling, transport og opbevaring af prøver

Bemærk! Alle prøver og kontroller skal håndteres som potentielt smittefarlige.

EDTA-plasmaprøver

- Opbevar alle prøver ved de angivne temperaturer. Prøvernes stabilitet påvirkes af forhøjede temperaturer.
- Hvis der benyttes frosne prøver i sekundære rør, skal prøverne placeres ved stuetemperatur (15-30 °C), indtil de er fuldstændigt optøede, og derefter blandes kort (f.eks. på en vortex-mixer i 3-5 sekunder) og centrifugeres for at samle hele prøvevolumen i bunden af røret.
- Fuldblod skal indsamles i BD Vacutainer® PPT™-rør (Plasma Preparation Tubes) til molekulære diagnosticerings-testmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel. Følg instruktionerne fra producenten af blodprøvetagningsrøret. Se Figur 1.
- Fuldblod, der er indsamlet i BD Vacutainer® PPT™ (Plasma Preparation Tubes) til molekulære diagnosticerings-testmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel, kan opbevares og/eller transporteres i op til 24 timer ved 2-25 °C før forberedelse af plasma. Der skal foretages centrifugering i henhold til producentens anvisninger.
- Ved separation kan plasmaprøver opbevares i 24 timer ved 2-30 °C i primære eller sekundære rør, efterfulgt af:
 - Opbevaring i primære eller sekundære rør i op til 6 dage ved 2-8 °C.
 - Opbevaring i sekundære rør i op til 6 måneder ved ≤ -20 °C.
- Plasmaprøver kan holde op til fire nedfrysninger/optøninger, når de nedfryses til ≤ -20 °C.
- Hvis prøverne skal sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende nationale og/eller internationale bestemmelser for transport af prøver og ætiologiske stoffer.

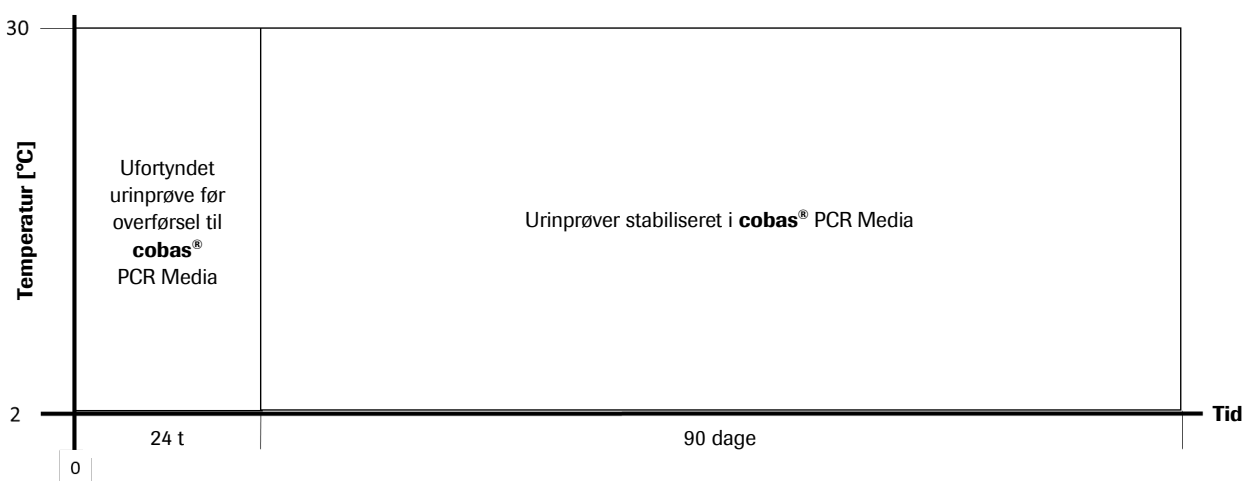
Figur 1 Prøveopbevaringsforhold for EDTA-plasma



Urinprøver

- Brug kun **cobas®** PCR-urinprøvekittet til at indsamle og stabilisere urinprøver til **cobas®** BKV. **cobas®** BKV er ikke valideret til brug med andre enheder til indsamling af urinprøver eller andre medietyper. Brug af **cobas®** BKV med andre enheder til indsamling af urinprøver eller andre medietyper kan medføre falsk-negative, falsk-positive og/eller invalide resultater.
- Urinprøver skal straks overføres til **cobas®** PCR Media-røret (stabiliseret). Hvis prøverne ikke kan overføres straks, kan de opbevares ved 2 °C til 30 °C i op til 24 timer.
Når urinprøverne er stabiliseret i **cobas®** PCR Media, kan prøverne opbevares i op til 90 dage ved 2-30 °C.
Se Figur 2.
- For urinprøver, der ikke er testet, skal toppen af væskenniveauet ligge mellem de to sorte streger på **cobas®** PCR Media-rørets mærkatvindue. Hvis væskenniveauet ligger over eller under disse streger, er prøven ikke indsamlet korrekt, og den kan ikke bruges til analyse.
- Hvis der ikke er en tilstrækkelig mængde urinprøve (4,3 ml) tilgængelig til fortynding i **cobas®** PCR-urinprøve-røret, kan urinen fortyndes manuelt med **cobas®** PCR Media. Før testning med **cobas®** BKV skal mindst 0,5 ml ufortyndet urinprøve fortyndes manuelt i **cobas®** PCR Media (forholdet 1:1).
- For at undgå krydskontaminering af behandlede prøver skal der anvendes ekstra låg til **cobas®** PCR Media-rør i en anden farve (neutral; se **Yderligere nødvendige materialer**) til at genlukke prøverne efter testning.
- Hvis der kræves yderligere test, skal man sørge for, at der er mindst 1,2 ml resterende prøve i **cobas®** PCR Media-røret.
- Hvis prøverne skal sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende nationale og/eller internationale bestemmelser for transport af prøver og ætiologiske stoffer.

Figur 2 Prøveopbevaringsforhold for urin



Brugsanvisning

Procedurebemærkninger

- Brug ikke **cobas®** BKV-reagenser, **cobas®** EBV/BKV Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit eller **cobas®** omni-reagenser efter deres udløbsdatoer.
- Genanvend ikke forbrugsartikler. De er kun beregnet til engangsbrug.
- Kontrollér, at prøvens barkodemærkater på prøverørene er synlige gennem åbningen i siden af de pågældende RD5- eller MPA-prøverack. Se brugervejledningen til **cobas®** 5800 System eller **cobas®** 6800/8800 Systems for at få oplysninger om de korrekte barkodespecifikationer og yderligere oplysninger om indsætning af prøverørene.
- Se brugerassistancen og/eller brugervejledningen til **cobas®** 5800 System eller **cobas®** 6800/8800 Systems for at få oplysninger om korrekt vedligeholdelse af instrumenter.

Kørsel af cobas® BKV på cobas® 5800 System

cobas® BKV kan køres med en minimumsprøvevolumen på 350 µl for EDTA-plasma (for prøvearbejdsgangen med 200 µl) og 550 µl for stabiliserede urinprøver (for prøvearbejdsgangen med 400 µl). Testproceduren er beskrevet i detaljer i brugervejledningen og/eller brugerassistancen til **cobas®** 5800 Systems.

Figur 3 nedenfor opsummerer proceduren.

- Prøver skal være uden låg og indsættes direkte på racks til behandling i **cobas® 5800 System**.
- En enkelt kørsel kan bestå af en hvilken som helst kombination af prøver (plasma, stabiliseret urin).

EDTA-plasma og stabiliserede urinprøver skal behandles ved hjælp af prøvetypevalg i brugergrænsefladen (UI) i **cobas® BKV** som beskrevet i Figur 3, trin 2.

Figur 3 **cobas® BKV**-testproceduren på **cobas® 5800 System**

1	Log på systemet Tryk på Start for at forberede systemet
2	Indsæt prøver i systemet: • Indsæt prøveracks i systemet • Systemet forberedes automatisk • Bestil test ○ Vælg "Plasma" for at bestille EDTA-plasmaprøver ○ Vælg "Urine" for at bestille urinprøver indsamlet i cobas® PCR Media ▪ Tag låget af røret ▪ Overfør røret direkte til racket
3	Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet: • Indsæt de(n) testspecifikke reagenskassette(r) • Indsæt miniracks til kontroller • Indsæt processeringsspidser • Indsæt elueringsspidser • Indsæt processeringsplader • Indsæt plader til flydende affald • Indsæt amplifikationsplader • Indsæt MGP-kassette • Genopfyld prøvediluent • Genopfyld lysisreagens • Genopfyld vaskereagens
4	Start kørslen ved at vælge knappen til "Start processing" (Start processering) i brugerinterfacet. Alle efterfølgende kørsler starter automatisk, hvis de ikke udsættes manuelt
5	Gennemse og eksportér resultater
6	Fjern og sæt om nødvendigt låg på de prøverør, der opfylder den påkrævede mindstevolumen, til fremtidig brug Rengør instrumentet: • Udtag tomme miniracks til kontroller • Udtag tom(me) testspecifik(ke) reagenskassette(r) • Tøm plastikbeholder med amplifikationsplader • Tøm flydende affald • Tøm fast affald

Kørsel af cobas® BKV på cobas® 6800/8800 Systems

cobas® BKV kan køres med en minimumsprøvevolumen på 350 µl for EDTA-plasma (for prøvearbejdsgangen med 200 µl) og 550 µl for stabiliserede urinprøver (for prøvearbejdsgangen med 400 µl). Instrumentets testprocedure er beskrevet i detaljer i brugervejledningen og/eller brugerassistenten til cobas® 6800/8800 Systems. Figur 4 nedenfor opsummerer proceduren.

- Prøver skal være uden låg og indsættes direkte på racks til behandling i cobas® 6800/8800 Systems.
- En enkelt kørsel kan bestå af en hvilken som helst kombination af prøver (plasma, stabiliseret urin).
- EDTA-plasma og stabiliserede urinprøver skal behandles ved hjælp af prøvetypevalg i brugergrænsefladen (UI) i cobas® BKV som beskrevet i Figur 4, trin 1.

Figur 4 cobas® BKV-testproceduren på cobas® 6800/8800 Systems

1	Log på systemet Tryk på Start for at forberede systemet Bestil test: • Vælg "Plasma" for at bestille EDTA-plasmaprøver • Vælg "Urine" for at bestille urinprøver indsamlet i cobas® PCR Media
2	Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet: • Indsæt den testspecifikke reagenskassette • Indsæt kontrolkassetter • Indsæt pipettespidser • Indsæt processeringsplader • Indsæt MGP-reagens • Indsæt amplifikationsplader • Genopfyld prøvediluent • Genopfyld lysisreagens • Genopfyld vaskereagens
3	Indsæt prøver i systemet: • For primære urinprøver, der er indsamlet i cobas® PCR Media ◦ Tag låget af røret ◦ Overfør røret direkte til racket • Indsæt prøveracket og rackene til clot-spidser i prøveforsyningsmodulet • Bekræft, at prøverne er blevet accepteret i transfermodulet
4	Start kørslen ved at vælge knappen til manuel start (Start manually) i brugerinterfacet, eller få den til at starte automatisk efter 120 minutter, eller hvis batchen er fuld
5	Gennemse og eksportér resultater
6	Fjern og sæt om nødvendigt låg på de prøverør, der opfylder den påkrævede mindstevolumen, til fremtidig brug Rengør instrumentet: • Udtag tomme kontrolkassetter • Tøm plastikbeholder med amplifikationsplader • Tøm flydende affald • Tøm fast affald

Resultater

cobas® 5800/6800/8800 Systems beregner automatisk BKV DNA-koncentrationen for prøverne og kontrollerne. BKV DNA-koncentration er udtrykt i internationale enheder pr. milliliter (IE/ml).

Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 5800 System

- En negativ kontrol [(-) Ctrl] og to positive kontroller, en lav positiv kontrol [EBV/BKV L (+) C] og en høj positiv kontrol [EBV/BKV H (+) C] processeres mindst hver 72. time og med hvert nye kitlot. Positive og/eller negative kontroller kan planlægges til at udføres oftere på baggrund af laboratorieprocedurer og/eller lokale bestemmelser.
- I cobas® 5800-softwaren og/eller -rapporten kontrolleres for markeringer og deres tilhørende resultater for at sikre validiteten af resultaterne.

Resultater erklæres automatisk invalide af cobas® 5800-softwaren på baggrund af fejl i negative eller positive kontroller.

Bemærk! cobas® 5800 System leveres med standardindstillingen til kørsel af et sæt kontroller (positive og negative) med hver kørsel men kan konfigureres til at udføres med længere intervaller op til hver 72. time på baggrund af laboratorieprocedurer og/eller lokale bestemmelser. Kontakt en servicetekniker fra Roche og/eller Roches tekniske kundesupport for at få flere oplysninger.

Kontrolresultater på cobas® 5800 System

Resultaterne af kontrollerne vises i cobas® 5800-softwaren i appen "Controls" (Kontroller).

- Kontroller er markeret med "Valid" i kolonnen "Control result" (Kontrolresultat), hvis alle targets for kontrollen rapporteres som værende valide. Kontroller er markeret med "Invalid" i kolonnen "Control result", hvis alle targets eller ét target for kontrollen rapporteres som værende invalid(t/e).
- Kontroller, der er markeret med "Invalid", viser en markering i kolonnen "Flags" (Markeringer). Der er flere oplysninger om, hvorfor kontrollen rapporteres som invalid, herunder oplysninger om markeringer, i detaljevisningen.
- Hvis én af kontrollerne er invalid, skal testen af alle kontroller og alle tilhørende prøver gentages.

Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 6800/8800 Systems

- Én negativ kontrol [(-) Ctr] og to positive kontroller, en lav positiv kontrol [EBV/BKV L (+) C] og en høj positiv kontrol [EBV/BKV H (+) C] processeres med hver batch.
- I cobas® 6800/8800-softwaren og/eller -rapporten kontrolleres for markeringer og deres tilhørende resultater for at sikre, at batchen er valid.
- Batchen er valid, hvis der ikke vises nogen markeringer for de tre kontroller, der inkluderer én negativ kontrol og to positive kontroller: EBV/BKV L (+) C, EBV/BKV H (+) C. Det negative kontrolresultat vises som (-) Ctrl, og de lave og høje positive kontroller vises som EBV/BKV L (+) C og EBV/BKV H (+) C.

Resultater erklæres automatisk invalide af cobas® 6800/8800-softwaren på baggrund af fejl i negative og positive kontrol.

Kontrolmarkeringer på cobas® 6800/8800 Systems

Tabel 12 Kontrolmarkeringer for negative og positive kontroller

Negativ kontrol	Markering	Resultat	Fortolkning
(-) Ctrl	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalidt	Et invalidt resultat eller det beregnede titerresultat for den negative kontrol er ikke negativt.
Positiv kontrol	Markering	Resultat	Fortolkning
EBV/BKV L (+) C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalidt	Et invalidt resultat, eller det beregnede titerresultat for den lave positive kontrol er ikke inden for det tildelte interval.
EBV/BKV H (+) C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalidt	Et invalidt resultat, eller det beregnede titerresultat for den høje positive kontrol er ikke inden for det tildelte interval.

Hvis kontrolbatchen er invalid, skal man gentage testen af alle prøver i den påvirkede batch.

Fortolkning af resultater

For en valid batch skal hver enkelt prøve kontrolleres for markeringer i **cobas® 5800** og **cobas® 6800/8800 Systems**-softwaren og/eller -rapporterne. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- En valid batch kan indeholde både valide og invalide prøveresultater.

Tabel 13 Target-resultater til individuel target-resultatfortolkning

Resultater	Fortolkning
Target Not Detected	BKV DNA ikke påvist. Rapportér resultater som "BKV ikke påvist".
< Titer Min ^a	Den beregnede titer er under den lave kvantificeringsgrænse (LLoQ) for analysen. Rapportér resultaterne som "BKV påvist, under (titer min.)". EDTA-plasma titer min. = 21,5 IE/ml Urin titer min. = 200 IE/ml
Titer	Det beregnede titerresultat er inden for det lineære område af analysen – større end eller lig med titer min. og mindre end eller lig med titer maks. Rapportér resultater som "(Titer) i BKV påvist".
> Titer Max ^b	Den beregnede titer er over den øvre kvantificeringsgrænse (ULoQ) for analysen. Rapportér resultaterne som "BKV påvist, større end (titer maks.)". EDTA-plasma og urin titer maks. = 1,0E+08 IE/ml

^a Prøveresultater < Titer Min (target påvist < LLoQ) skal fortolkes i sammenhæng med andre kliniske data og bør ikke være det eneste grundlag for beslutninger ifm. behandlingen.

^b Prøveresultat > Titer Max henviser til BKV-positive prøver, der er påvist med titre over den øvre grænse for kvantificering (ULoQ). Hvis der ønskes et kvantitativt resultat for EDTA-plasma prøver, skal den oprindelige prøve fortolkes med BKV-negativt humant EDTA-plasma, og testen gentages. Multipliser det rapporterede resultat med fortyndingsfaktoren.

Fortolkning af resultater på cobas® 5800 System

Resultaterne af prøverne vises i **cobas®** 5800-softwaren i appen "Results" (Resultater).

For en valid kontrolbatch skal hver enkelt prøve kontrolleres for markeringer i **cobas®** 5800-softwaren og/eller -rapporten. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- Prøver, der er tilknyttet en valid kontrolbatch, vises som "Valid" i kolonnen "Control result" (Kontrolresultat), hvis alle target-resultater for kontrollen rapporteres som valide. Prøver, der er tilknyttet en mislykket kontrolbatch, vises som "Invalid" i kolonnen "Control result", hvis alle target-resultater for kontrollen rapporteres som invalide.
- Hvis de tilhørende prøver for et prøveresultat er invalide, bliver følgende specifikke markering føjet til prøveresultatet:
 - Q05D: Fejl i resultatvalidering på grund af en invalid positiv kontrol
 - Q06D: Fejl i resultatvalidering på grund af en invalid negativ kontrol
- Værdierne i kolonnen "Results" (Resultater) for individuelt target-resultat af prøven skal fortolkes som vist i Tabel 13 ovenfor.

Hvis en eller flere prøve-targets er markeret med "Invalid", viser **cobas®** 5800-softwaren en markering i kolonnen "Flags" (Markeringer). Der er flere oplysninger om, hvorfor prøve-target(s) rapporteres som invalid(e), herunder oplysninger om markeringer, i detaljevisningen.

Fortolkning af resultater på cobas® 6800/8800 Systems

For valide batches skal hver enkelt prøve kontrolleres for markeringer i **cobas®** 6800/8800 Systems-softwaren og/eller -rapporten. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- Prøver markeres med "Yes" (Ja) i kolonnen "Valid", hvis alle rekvirerede target-resultater blev rapporteret som valide resultater. Prøver, der er markeret med "No" (Nej) i kolonnen "Valid", kan kræve yderligere fortolkning og handling.
- Værdierne for et individuelt target-resultat af prøven skal fortolkes som vist i Tabel 13 ovenfor.

Begrænsninger ved procedureerne

- **cobas®** BKV er kun evalueret til brug sammen med **cobas®** EBV/BKV Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit, **cobas®** omni MGP Reagent, **cobas®** omni Lysis Reagent, **cobas®** omni Specimen Diluent og **cobas®** omni Wash Reagent til brug på **cobas®** 5800/6800/8800 Systems.
- Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer til prøvetagning, -opbevaring og -håndtering.
- Denne test er kun valideret til brug med EDTA-plasma og stabiliseret urin. Test af andre prøvetyper med **cobas®** BKV kan medføre unøjagtige resultater. Målinger af DNA-niveauet i plasma og stabiliseret urin er ikke direkte sammenlignelige med hinanden og målinger af andre prøvetyper.
- Kvantificeringen af BKV DNA kan påvirkes af prøvetagningsmetoder, patientfaktorer (dvs. alder, forekomst af symptomer) og/eller infektionsstadiet.
- Forringelse af BKV DNA i en ufortyndet urinprøve kan påvirke kvantificeringen.¹⁷ Urin skal overføres til **cobas®** PCR Media for at opnå prøveholdbarheden.

- Den kvantitative variabilitet i BKV DNA, der er forbundet med urin, er observeret i prøveholdbarhedsforsøg på forskellige prøvetagningstidspunkter (ufortyndet urin) eller i forskellige afmålte mængder af samme prøve (ufortyndet urin og urin stabiliseret i **cobas**® PCR Media).
- På grund af disse begrænsninger bør BKV DNA-resultater i urin fortolkes med forsigtighed i sammenhæng med kliniske og andre laboratoriemæssige fund og bør ikke være det eneste grundlag for beslutninger ifm. behandlingen.
- Urin kan indeholde høje niveauer af BKV DNA med en risiko for overførsel af kontaminering.¹⁸
- Som med enhver molekyler test kan mutationer i target-områderne i **cobas**® BKV påvirke primere og/eller probebindingsresultater, hvilket medfører underkvantificering af eller manglende evne til at detektere virussen.
- På grund af naturlige forskelle mellem teknologier anbefales det, at brugeren udfører metodekorrelationsundersøgelser i laboratoriet for at påvise teknologiske forskelle, før der skiftes fra én teknologi til en anden. Brugerne bør følge de aktuelle politikker/procedurer.
- **cobas**® BKV er ikke beregnet til brug som en screeningstest for tilstedeværelsen af BKV i blod eller blodprodukter.

Evaluering af ikke-klinisk performance

Vigtige egenskaber for performance for EDTA-plasmaprøvetypen udført på **cobas**® 6800/8800 Systems

Detektionsgrænse (LoD) WHO's internationale standard

Detektionsgrænsen for **cobas**® BKV for WHO's internationale standard blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af 1st WHO BKV International Standard fra NIBSC (NIBSC 14/212) på BKV-negativt humant EDTA-plasma. Paneler med seks koncentrationsniveauer samt et blindt blev testet ved hjælp af tre lot af **cobas**® BKV-reagenser samt flere kørsler, dage, brugere og instrumenter.

Resultaterne for EDTA-plasma vises i Tabel 14 til og med Tabel 16. Undersøgelsen påviste, at med det mindst sensitive lot, er den koncentration, hvor der ventes en 95 % hit rate for PROBIT, 21,5 IE/ml med et 95 % konfidensinterval på 16,3-32,4 IE/ml i EDTA-plasma. Den laveste koncentration med en hit rate $\geq 95\%$ er 19,0 IE/ml i EDTA-plasma.

Tabel 14 Detektionsgrænse i EDTA-plasma, lot 1

Koncentration i inputtiter (BKV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	46	73,0
4,75	63	36	57,1
2,38	63	23	36,5
0	62	0	0,0
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	21,5 IE/ml 95 % konfidensinterval: 16,3-32,4 IE/ml		

Tabel 15 Detektionsgrænse i EDTA-plasma, lot 2

Koncentration i inputtiter (BKV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
80,0	62	62	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	61	96,8
9,5	63	48	76,2
4,75	63	34	54,0
2,38	62	23	37,1
0	62	0	0,0
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	19,7 IE/ml 95 % konfidensinterval: 15,0-29,2 IE/ml		

Tabel 16 Detektionsgrænse i EDTA-plasma, lot 3

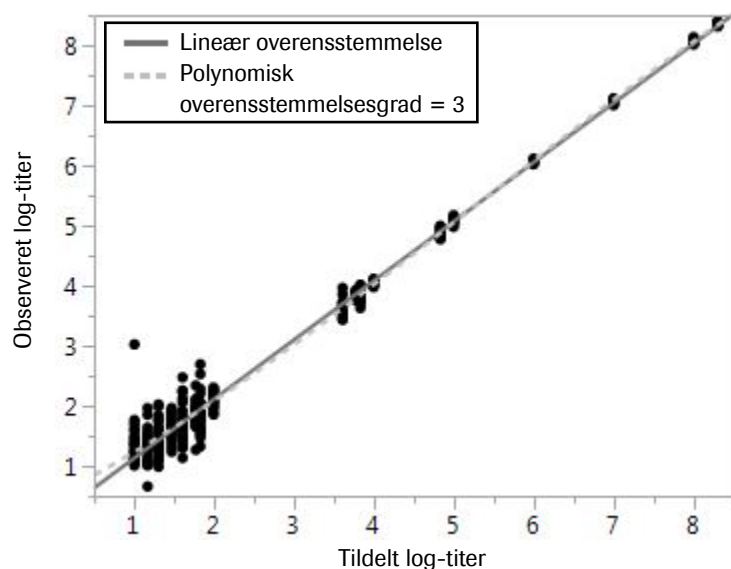
Koncentration i inputtiter (BKV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	50	79,4
4,75	63	35	55,6
2,38	63	22	35,0
0	63	0	0,0
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	19,3 IE/ml 95 % konfidensinterval: 14,8-28,5 IE/ml		

Lineært interval

Lineariteten i **cobas**® BKV blev evalueret ved hjælp af en fortyndingsserie bestående af 18 panelmedlemmer med BKV-undergruppe Ib DNA, som spænder over analysens lineære interval. Der blev anvendt en lambda-DNA-stock-opløsning med høj titer til forberedelse af 11 panelmedlemmer, som spændte over hele det lineære interval. Der blev anvendt en klinisk prøve til forberedelse af syv panelmedlemmer, der dækkede de mellemste og nedre niveauer af det lineære interval.

Hvert panelmedlem blev testet i 36 bestemmelser med tre lot af **cobas**® BKV-reagenser, og resultaterne af undersøgelsen er vist i Figur 5.

cobas® BKV blev påvist at være lineær fra $1,01 \times 10^1$ til $1,97 \times 10^8$ IE/ml og viser en absolut afvigelse fra den mere passende ikke-lineære regression på mindre end eller lig med $\pm 0,1 \log_{10}$ i humant EDTA-plasma (se Figur 5). På tværs af det lineære område var testens nøjagtighed inden for $\pm 0,2 \log_{10}$.

Figur 5 Bestemmelse af lineært område i EDTA-plasma

Præcision – intra-laboratorium

Præcisionen af **cobas**® BKV blev bestemt ved analyse af serielle fortyndinger af BKV DNA med høj titer (undergruppe Ib) i BKV-negativt EDTA-plasma. Fem fortyndingsniveauer blev testet i 72 bestemmelse for hvert niveau med tre lot af **cobas**® BKV-reagenser ved hjælp af fire instrumenter og to brugere over 12 dage. Hver af prøverne blev kørt igennem hele **cobas**® BKV-proceduren på et fuldautomatisk **cobas**® 6800/8800 Systems. Den angivne præcision repræsenterer derfor alle aspekter af testproceduren. Resultaterne vises i Tabel 17.

cobas® BKV viste høj præcision for tre lot med reagenser, der blev testet på tværs af et koncentrationsområde på $9,83\text{E}+01$ IE/ml til $9,83\text{E}+05$ IE/ml.

Tabel 17 Præcision i laboratoriet mht. **cobas**® BKV*

Nominel koncentration [IE/ml]	Tildelt koncentration [IE/ml]	EDTA-plasma			
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle lot
		SD	SD	SD	Poolet SD
$1,00\text{E}+06$	$9,83\text{E}+05$	0,02	0,02	0,04	0,03
$1,00\text{E}+05$	$9,83\text{E}+04$	0,03	0,04	0,04	0,04
$1,00\text{E}+04$	$9,83\text{E}+03$	0,04	0,05	0,03	0,04
$6,00\text{E}+03$	$5,90\text{E}+03$	0,03	0,05	0,03	0,04
$1,00\text{E}+02$	$9,83\text{E}+01$	0,09	0,11	0,11	0,11

* Titerdata anses for at være log-normalfordelt og analyseres efter $\log_{10}$ -transformationen. Kolonnerne med standardafvigelser (SD) viser den samlede log-transformerede titer for hvert af de tre reagenslot.

Bekræftelse af undertype

Performance for **cobas**® BKV på BKV-undertype I (med undergrupperne Ia og Ic), II, III og IV blev evalueret ved:

- Bekræftelse af detektionsgrænsen
- Bekræftelse af det lineære interval

Bekræftelse af detektionsgrænsen for undertype I (med undergrupperne Ia og Ic), II, III og IV

BKV DNA for de fem forskellige undertyper/undergrupper (Ia, Ic, II, III og IV) blev fortyndet til tre forskellige koncentrationsniveauer i BKV-negativt EDTA-plasma. Hit rate-bestemmelsen blev udført med 63 bestemmelser for hvert niveau. Testen blev foretaget med tre lot af **cobas**® BKV-reagenser samt flere kørsler, dage, brugere og instrumenter. Disse resultater bekræfter, at **cobas**® BKV detekterede BKV DNA for fem forskellige undertyper/undergrupper ved koncentrationer på 21,5 IE/ml med en hit rate på ≥ 95 %.

Bekræftelse af det lineære interval for undertype I (med undergrupperne Ia og Ic), II, III og IV

Den fortyndingsserie, der bruges ved bekræftelsen af linearitetsundersøgelsen af undertyper/undergrupper i **cobas**® BKV, består af otte panelmedlemmer, der spænder over det lineære interval for analysen. Testen blev foretaget med tre lot af **cobas**® BKV-reagenset. Der blev testet 12 bestemmelser pr. niveau i EDTA-plasma.

Det lineære interval for **cobas**® BKV blev bekræftet for alle fem undertyper/undergrupper (Ia, Ic, II, III og IV).

Specifitet

Specifiteten for **cobas**® BKV blev bestemt ved at analysere BKV-negative EDTA-plasmaprøver fra individuelle donorer. 104 individuelle EDTA-plasmaprøver blev testet med tre lot af **cobas**® BKV-reagenser. Alle prøver blev testet negative for BKV DNA. I testpanelet var specificiteten for **cobas**® BKV 100 % (nedre ensidet 95 % konfidensinterval: 97,16 %).

Analytisk specificitet

Den analytiske specificitet for **cobas**® BKV blev evalueret ved at teste et panel af mikroorganismer i en koncentration på 1,00E+06 enheder/ml (CFU/ml, celler/ml, CCU/ml, IFU/ml) for bakterier og gær og mellem 1,00E+05 enheder/ml og 1,00E+06 enheder/ml (kopier/ml, TCID₅₀/ml, IE/ml, celler/ml) for vira. Mikroorganismer blev fortyndet i BKV-negativt humant EDTA-plasma samt humant EDTA-plasma, der indeholdt (100 IE/ml) BKV DNA. De specifikke organismer, der blev testet, er angivet i Tabel 18. Hver prøve blev testet i tredobbelt bestemmelse. Ingen af ikke-BKV-patogenerne interfererede med testens performance ved de testede koncentrationer. Negative resultater blev bestemt ved hjælp af **cobas**® BKV for alle mikroorganismer uden BKV-target, og positive resultater blev bestemt for alle mikroorganismeprøver med BKV-target. Derudover var den gennemsnitlige log₁₀-titer for hver af de positive BKV-prøver, der indeholdt potentielt krydsreagerende organismer, inden for $\pm 0,5$ log₁₀ af den gennemsnitlige log₁₀-titer for den pågældende positive berigede kontrol.

Tabel 18 Mikroorganismer, der er testet for krydsreaktivitet

Vira	Bakterier	Gær
Adenovirus, type 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Cytomegalovirus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Epstein Barr-virus	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitis B-virus	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Hepatitis C-virus	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Herpes simplexvirus, type 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Herpes simplexvirus, type 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Human herpesvirus, type 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Human herpesvirus, type 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Human herpesvirus, type 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Human immundefektvirus-1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Human immundefektvirus-2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Human papillomavirus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
JC-virus	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovirus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Simian-virus 40	-	-
Varicella-Zoster-virus	-	-

Analytisk specificitet – interfererende stoffer

Høje niveauer af triglycerider (33 g/l), konjugeret bilirubin (0,2 g/l), ukonjugeret bilirubin (0,2 g/l), albumin (60 g/l), hæmoglobin (2 g/l) og humant DNA (2 mg/l) i prøver blev testet ved tilstedeværelse (100 IE/ml) og fravær af BKV DNA. De testede endogene interferenser udviste ingen interferens med testens performance for **cobas®** BKV.

Derudover blev lægemiddelstoffer, der er angivet i Tabel 19, testet ved tre gange $C_{\max}$ ved tilstedeværelse og fravær af BKV DNA.

Alle potentielt interfererende stoffer viste sig ikke at interferere med testens performance. Negative resultater blev bestemt ved hjælp af **cobas®** BKV for alle prøver uden BKV-target, og positive resultater blev bestemt for alle prøver med BKV-target. Derudover var den gennemsnitlige $\log_{10}$ -titer for hver af de positive BKV-prøver, der indeholdte potentielt interfererende stoffer, inden for $\pm 0,5 \log_{10}$ af den gennemsnitlige $\log_{10}$ -titer for den pågældende positive berigelseskontrol.

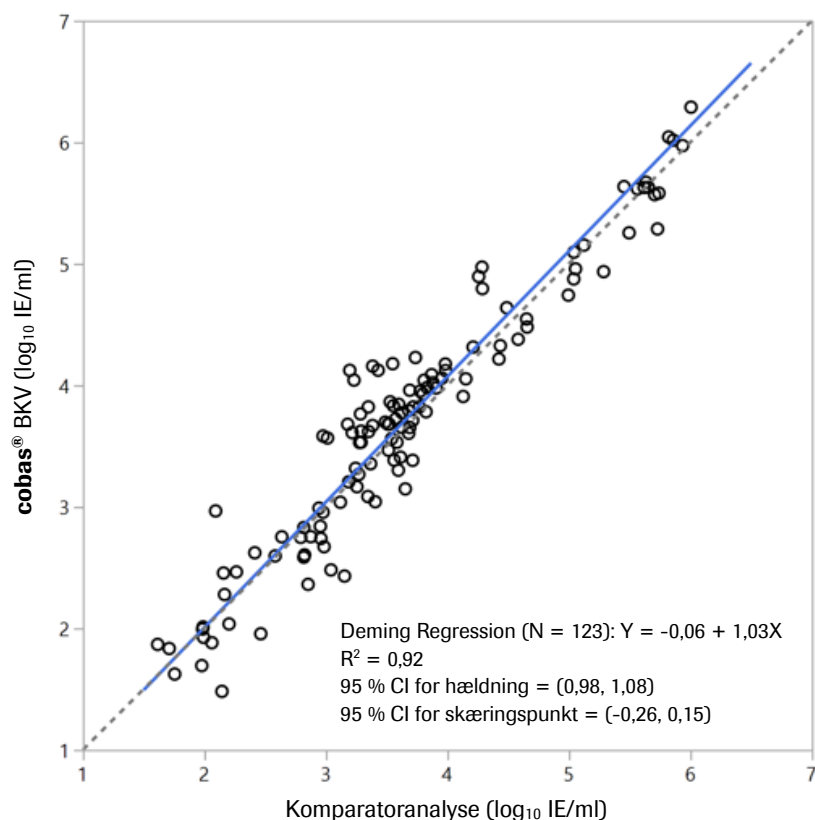
Tabel 19 Lægemiddelstoffer, der er testet for interferens med kvantificeringen af BKV DNA ved hjælp af **cobas®** BKV

Lægemiddelklasse	Lægemidlets generiske navn	
Antimikrobiel	Cefotetan	Sulfamethoxazol
	Kaliumclavulanat	Ticarcillin disodium
	Fluconazol	Trimethoprim
	Piperacillin	Vancomycin
	Tazobactam natrium	Micafungin
Forbindelser til behandling af herpesvira	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
	Acyclovir	Letermovir
Immunsuppressivt lægemiddel	Azathioprin	Prednison
	Cyclosporin	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Mycophenolat mofetil	Mycophenolsyre

Metodekorrelation

Performance for **cobas®** BKV blev vurderet ved sammenligning med en komparatoranalyse ved at analysere EDTA-plasmaprøver fra BKV-inficerede patienter. EDTA-plasmaprøver inden for kvantificeringsintervallet for begge test blev testet som enkelte bestemmelser. Der blev foretaget en Deming-regressionsanalyse.

Deming-regressionsresultaterne vises i Figur 6.

Figur 6 Regressionsanalysen for **cobas®** BKV ift. komparatoranalyse

Systemfejlfrekvens

Systemfejlfrekvensen for **cobas®** BKV blev bestemt ved at teste 100 bestemmelser af EDTA-plasma beriget med en BKV-positiv klinisk prøve. Disse prøver blev testet ved en koncentration på $3 \times \text{LoD}$.

Resultaterne af denne undersøgelse viste, at alle bestemmelser var valide og positive for BKV-target, hvilket medførte en generel systemfejlfrekvens på 0 % (øvre ensidet 95 % konfidensinterval 2,95 %).

Krydskontaminering

Krydskontamineringsforholdet for **cobas®** BKV blev bestemt ved at teste 240 bestemmelser af en BKV-negativ matrix-prøve og 225 bestemmelser af en BKV DNA-prøve med høj titer ved $2,00\text{E}+07$ IE/ml. I alt blev der udført fem kørsler med positive og negative prøver i en checkerboard-konfiguration.

Alle 240 bestemmelser af den negative prøve var negative, hvilket medførte et krydskontamineringsforhold på 0 % (øvre ensidet 95 % konfidensinterval 1,24 %).

Vigtige egenskaber for performance for urinprøvetypen udført på cobas® 6800/8800 Systems

Detektionsgrænse (LoD) WHO's internationale standard

Detektionsgrænsen for cobas® BKV for WHO's internationale standard blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af 1st WHO BKV International Standard fra NIBSC (NIBSC 14/212) på poolede BKV-negative urinprøver stabiliseret i cobas® PCR Media. Paneler med seks koncentrationsniveauer samt et blindt blev testet ved hjælp af tre lot af cobas® BKV-reagenser samt flere kørsler, dage, brugere og instrumenter.

Resultaterne for poolede urinprøver stabiliseret i cobas® PCR Media vises i Tabel 20 til og med Tabel 22. Undersøgelsen påviste, at med det mindst sensitive lot, er den koncentration, hvor der ventes en 95 % hit rate for PROBIT, 12,2 IE/ml med et 95 % konfidensinterval på 9,2-18,3 IE/ml i ufortyndet urin. Den laveste koncentration med en hit rate ≥ 95 % er 10,0 IE/ml i ufortyndet urin.

Tabel 20 Detektionsgrænse i urin, lot 1

Koncentration i inputtiter (BKV DNA IE/ml)*	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	60	95,2
5,0	63	47	74,6
2,5	63	25	39,7
1,25	63	26	41,3
0	63	0	0,0
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	12,2 IE/ml 95 % konfidensinterval: 9,2-18,3 IE/ml		

* Urinprøver testet stabiliseret i cobas® PCR Media. Koncentration i inputtiter brugt til beregning på baggrund af ufortyndet urin.

Tabel 21 Detektionsgrænse i urin, lot 2

Koncentration i inputtiter (BKV DNA IE/ml)*	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	60	95,2
5,0	63	42	66,7
2,5	63	32	50,8
1,25	63	17	27,0
0	63	0	0,0
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	11,9 IE/ml 95 % konfidensinterval: 9,2-17,3 IE/ml		

* Urinprøver testet stabiliseret i **cobas**® PCR Media. Koncentration i inputtiter brugt til beregning på baggrund af ufortyndet urin.

Tabel 22 Detektionsgrænse i urin, lot 3

Koncentration i inputtiter (BKV DNA IE/ml)*	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	61	96,8
5,0	63	46	73,0
2,5	63	39	61,9
1,25	63	19	30,2
0	63	0	0,0
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	10,1 IE/ml 95 % konfidensinterval: 7,8-14,7 IE/ml		

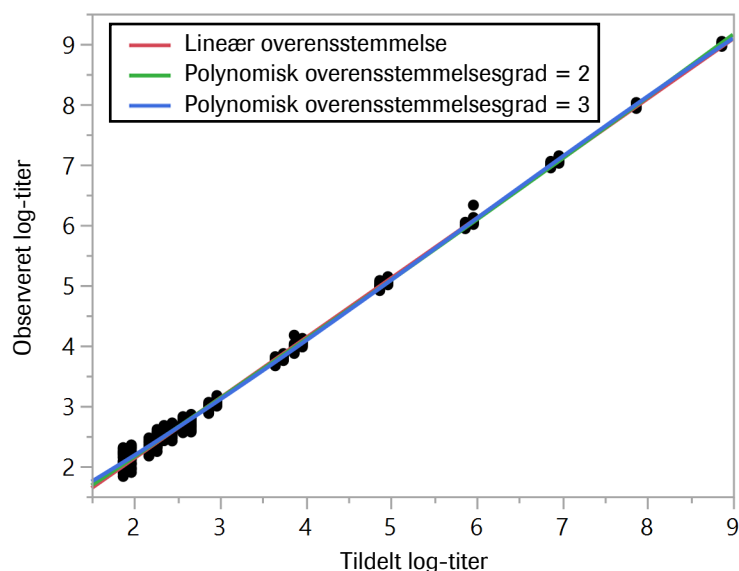
* Urinprøver testet stabiliseret i **cobas**® PCR Media. Koncentration i inputtiter brugt til beregning på baggrund af ufortyndet urin.

Lineært interval

Lineariteten i **cobas**® BKV blev evalueret ved hjælp af en fortyndingsserie bestående af 10 panelmedlemmer med en klinisk prøve (BKV-undergruppe Ib), som spænder over analysens lineære interval. Der blev anvendt en lambda-DNA-stockopløsning med høj titer til forberedelse af 12 panelmedlemmer, som spændte over hele det lineære interval.

Hvert panelmedlem blev testet i 36 bestemmelser med tre lot af **cobas**® BKV-reagenser, og resultaterne af undersøgelsen er vist i Figur 7.

cobas® BKV blev påvist at være lineær fra 7,41E+01 IE/ml til 7,41E+08 IE/ml og viser en absolut afvigelse fra den mere passende ikke-lineære regression på mindre end eller lig med $\pm 0,1 \log_{10}$ i poolerede urinprøver stabiliseret i **cobas**® PCR Media (se Figur 7). På tværs af det lineære område var testens nøjagtighed inden for $\pm 0,2 \log_{10}$.

Figur 7 Bestemmelse af lineært område i urin

Præcision – intra-laboratorium

Præcisionen af **cobas®** BKV blev bestemt ved analyse af serielle fortyndinger af BKV DNA med høj titer (undergruppe Ib) i poolede BKV-negative urinprøver stabiliseret i **cobas®** PCR Media. Fem fortyndingsniveauer blev testet i 72 bestemmelser for hvert niveau med tre lot af **cobas®** BKV-reagenser ved hjælp af to instrumenter og to brugere over 12 dage. Hver af prøverne blev kørt igennem hele **cobas®** BKV-proceduren på et fuldautomatisk **cobas®** 6800/8800 Systems. Den angivne præcision repræsenterer derfor alle aspekter af testproceduren. Resultaterne vises i Tabel 23.

cobas® BKV viste høj præcision for tre lot med reagenser, der blev testet på tværs af et koncentrationsområde på $7,41\text{E}+02$ IE/ml til $7,41\text{E}+05$ IE/ml.

Tabel 23 Præcision i laboratoriet mht. **cobas®** BKV*

Nominel koncentration [IE/ml]	Tildelt koncentration [IE/ml]	Urinprøver stabiliseret i cobas® PCR Media			
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle lot
		SD	SD	SD	Poolet SD
$1,00\text{E}+06$	$7,41\text{E}+05$	0,02	0,02	0,02	0,02
$1,00\text{E}+05$	$7,41\text{E}+04$	0,02	0,03	0,02	0,03
$1,00\text{E}+04$	$7,41\text{E}+03$	0,03	0,03	0,03	0,03
$6,00\text{E}+03$	$4,44\text{E}+03$	0,04	0,03	0,04	0,03
$1,00\text{E}+03$	$7,41\text{E}+02$	0,05	0,05	0,04	0,05

* Titerdata anses for at være log-normalfordelt og analyseres efter $\log_{10}$ -transformationen. Kolonnerne med standardafvigelser (SD) viser den samlede log-transformerede titer for hvert af de tre reagenslot.

Bekræftelse af undertype

Performance for **cobas**® BKV på BKV-undertype I (med undergrupperne Ia og Ic), II, III og IV blev evalueret ved:

- Bekræftelse af detektionsgrænsen
- Bekræftelse af det lineære interval

Bekræftelse af detektionsgrænsen for undertype I (med undergrupperne Ia og Ic), II, III og IV

BKV DNA for de fem forskellige undertyper/undergrupper (Ia, Ic, II, III og IV) blev fortyndet til tre forskellige koncentrationsniveauer i poolede BKV-negative urinprøver stabiliseret i **cobas**® PCR Media. Hit rate-bestemmelsen blev udført med 63 bestemmelser for hvert niveau. Testen blev foretaget med tre lot af **cobas**® BKV-reagenser samt flere kørsler, dage, brugere og instrumenter. Disse resultater bekræfter, at **cobas**® BKV detekterede BKV DNA for fem forskellige undertyper/undergrupper ved koncentrationer på 12,2 IE/ml med en hit rate på ≥ 95 %.

Bekræftelse af det lineære interval for undertype I (med undergrupperne Ia og Ic), II, III og IV

Den fortyndingsserie, der bruges ved bekræftelsen af linearitetsundersøgelsen af undertyper/undergrupper i **cobas**® BKV, består af otte panelmedlemmer, der spænder over det lineære interval for analysen. Testen blev foretaget med tre lot af **cobas**® BKV-reagenset. Der blev testet 12 bestemmelser pr. niveau i urin stabiliseret i **cobas**® PCR Media.

Det lineære interval for **cobas**® BKV blev bekræftet for alle fem undertyper/undergrupper (Ia, Ic, II, III og IV).

Specificitet

Specificiteten for **cobas**® BKV blev bestemt ved at analysere BKV-negative urinprøver stabiliseret i **cobas**® PCR Media fra individuelle donorer. Et hundrede individuelle urinprøver blev testet med tre lot af **cobas**® BKV-reagenser. Alle prøver blev testet negative for BKV DNA. I testpanelet var specificiteten for **cobas**® BKV 100 % (nedre ensidet 95 % konfidens-interval: 97,05 %).

Analytisk specificitet

Den analytiske specificitet for **cobas**® BKV blev evalueret ved at teste et panel af mikroorganismer i en koncentration på mellem 1,00E+06 enheder/ml og 2,00E+06 enheder/ml (CFU/ml, celler/ml, CCU/ml, IFU/ml) for bakterier og gær og på 1,00E+05 enheder/ml (kopier/ml, TCID₅₀/ml, IE/ml, celler/ml) for vira. Mikroorganismer blev fortyndet i BKV DNA-negativ urin samt urin, der indeholdt (600 IE/ml) BKV DNA. De specifikke organismer, der blev testet, er angivet i Tabel 24. Hver prøve blev testet i tredobbelt bestemmelse. Ingen af ikke-BKV-patogenerne interfererede med testens performance ved de testede koncentrationer. Negative resultater blev bestemt ved hjælp af **cobas**® BKV for alle mikroorganismer uden BKV-target, og positive resultater blev bestemt for alle mikroorganismeprøver med BKV-target. Derudover var den gennemsnitlige log₁₀-titer for hver af de positive BKV-prøver, der indeholdt potentielt krydsreagerende organismer, inden for $\pm 0,5$ log₁₀ af den gennemsnitlige log₁₀-titer for den pågældende positive berigede kontrol.

Tabel 24 Mikroorganismer, der er testet for krydsreaktivitet

Vira	Bakterier	Bakterier	Gær
Herpes simplexvirus-2	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Human papillomavirus 16	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida glabrata</i>
-	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
-	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Candida tropicalis</i>
-	<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	-
-	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
-	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus oralis/viridans</i>	-
-	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	-
-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
-	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	-
-	<i>Treponema pallidum</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	-
-	<i>Lactobacillus crispatus</i>	-	-
-	<i>Trichomonas vaginalis</i>	-	-
-	<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	-
-	<i>Lactobacillus jensenii</i>	-	-
-	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	-	-
-	<i>Morganella morganii</i>	-	-

Analytisk specificitet – interfererende stoffer

Høje albumin-koncentrationer (0,5 % w/v), konjugeret bilirubin (1 % w/v), glukose (1 % w/v), mononukleare celler i perifert blod (1,00E+06 celler/ml), mucus (ved tilstedeværelse af 1 mucus-podepind pr. 4,3 ml prøve), sur pH (pH 4), alkalisk pH (pH 9), sæd (1 podeprøve dryppet i sæd pr. 4,3 ml prøve), natrium (300 mEq/l) og fuldblod (10 % v/v) i prøver blev testet ved tilstedeværelse af (600 IE/ml) og fravær af BKV DNA. De testede endogene interferenser udviste ingen interferens med testens performance for **cobas®** BKV.

Derudover blev lægemiddelstoffer, der er angivet i Tabel 25, testet ved tilstedeværelse og fravær af BKV DNA.

Alle potentielt interfererende stoffer med undtagelse af talkumpulver viste sig ikke at interferere med testens performance. Talkumpulver ved $\leq 0,05$ % viste ingen interferens med **cobas®** BKV. Negative resultater blev bestemt ved hjælp af **cobas®** BKV for alle prøver uden BKV-target, og positive resultater blev bestemt for alle prøver med BKV-target. Derudover var den gennemsnitlige $\log_{10}$ -titer for hver af de positive BKV-prøver, der indeholdte potentielt interfererende stoffer, inden for $\pm 0,5 \log_{10}$ af den gennemsnitlige $\log_{10}$ -titer for den pågældende positive berigelseskontrol.

Tabel 25 Lægemiddelstoffer, der er testet for interferens med kvantificeringen af BKV DNA ved hjælp af cobas® BKV

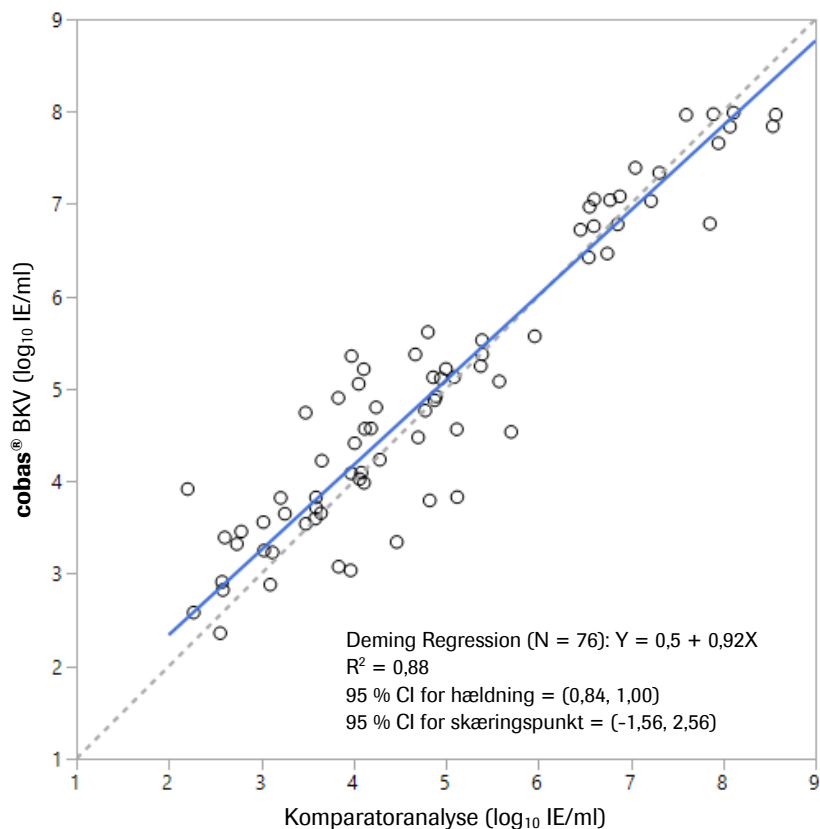
Lægemiddelklasse	Aktivt stof	Koncentration	Lægemidlets generiske navn
Antimikrobiel	Clotrimazole	100 µg/ml	Gyne-Lotrimin 7
	Metronidazol	701 µmol/l	Arilin rapid Vaginale stikpiller Vagi Metro Cream Nidazea Gel
Østrogen, steroidhormon	Estradiol	4,41 nmol/l	Estrace
Analgetikum	Phenazopyridinhydrochlorid	200 µg/ml	Azo Standard
	Acetaminofen	1324 µmol/l	Acetaminofen
Smøremiddel	Propylenglycol	1000 µg/ml	K-Y UltraGel
Ikke-steroidt antiinflammatorisk lægemiddel	Acetylsalicylsyre	3,62 mmol/l	Acetylsalicylsyre
	Naproxen	2170 µmol/l	Naproxen
	Ibuprofen	2425 µmol/l	Ibuprofen
Ikke relevant	Talkum	0,05 % (w/v)	Talkumpulver

Metodekorrelation

Performance for **cobas**® BKV blev vurderet ved sammenligning med en komparatoranalyse ved at analysere urinprøver fra BKV-inficerede patienter. Urinprøver inden for kvantificeringsintervallet for begge test blev testet som enkelte bestemmelser. Der blev foretaget en Deming-regressionsanalyse.

Deming-regressionsresultaterne vises i Figur 8.

Figur 8 Regressionsanalysen for **cobas**® BKV ift. komparatoranalyse



Krydskontaminering

Krydskontamineringsforholdet for **cobas**® BKV blev bestemt ved at teste 240 bestemmelser af en BKV-negativ matrix-prøve og 225 bestemmelser af en BKV DNA-prøve med høj titer ved 1,00E+09 IE/ml. I alt blev der udført fem kørsler med positive og negative prøver i en checkerboard-konfiguration.

Alle 240 bestemmelser af den negative prøve var negative, hvilket medførte et krydskontamineringsforhold på 0,0 % (øvre ensidet 95 % konfidensinterval 1,24 %).

Evaluering af klinisk performance udført på cobas® 6800/8800 Systems

Reproducerbarhed af cobas® BKV for EDTA-plasmaprøvetypen

Reproducerbarheden af cobas® BKV blev evalueret på tværs af faktorer (reagenslot, testlokalitet, batch og testdage), der kan påvirke de rapporterede resultater ved rutinemæssig klinisk testning. Evalueringen blev foretaget på 3 testlokaliteter, med 3 reagenslots samt med et positivt og negativt prøvepanel med et samlet antal på 270 test pr. koncentration (uden inkludering af kontroller). Panelerne bestod af EDTA-plasma, der var BKV VCA IgG-negativt, og blev testet for BKV med en frigivelsesprotokol for plasma-NAT og tilsat BKV WHO International Standard eller BKV-genotype Ib-dyrket virus-DNA (den mest almindelige genotype). To brugere på hver lokalitet testede hvert reagenslot over 5 dage. Der blev udført to kørsler (1 kørsel = 1 batch; 1 batch = 1 panel + 3 kontroller) hver dag, og der blev foretaget 3 replikater for hvert panelmedlem for hver kørsel. Evalueringsresultaterne er opsummeret i Tabel 26.

Tabel 26 Tildelt total variationsprocent (%TV), samlet præcisionsstandardafvigelse (SD) og lognormal CV (%) af BKV DNA-koncentration ($\log_{10}$ IE/ml) efter positivt panelmedlem

Forventet BKV DNA-koncentration ($\log_{10}$ IU/ml)	Observeret gennemsnitlig ^a BKV DNA-koncentration ($\log_{10}$ IU/ml)	Antal tests ^b	Lot %TV ^c (CV%) ^d	Sted %TV ^c (CV%) ^d	Dag/bruger %TV ^c (CV%) ^d	Batch %TV ^c (CV%) ^d	Inden for batch %TV ^c (CV%) ^d	Samlet præcision SD ^e	Samlet præcision for lognormal CV (%) ^d
1,81	1,74	270	9 % (20,63)	6 % (17,69)	0 % (0,00)	7 % (19,15)	78 % (68,05)	0,304	79,43
3,70	3,52	270	10 % (9,79)	10 % (9,57)	14 % (11,44)	25 % (15,16)	40 % (19,38)	0,131	30,91
4,70	4,51	270	3 % (4,42)	24 % (13,46)	0 % (0,00)	56 % (20,58)	17 % (11,27)	0,118	27,71
5,70	5,54	270	7 % (5,66)	28 % (11,50)	0 % (0,00)	40 % (13,85)	25 % (10,84)	0,094	21,94
7,70	7,62	269	4 % (3,27)	49 % (11,00)	0 % (0,00)	13 % (5,60)	34 % (9,10)	0,068	15,74

^a Beregnet ved hjælp af SAS MIXED-proceduren.

^b Antal valide test med detekterbart DNA-niveau.

^c %TV = bidrag til samlet variation i procent.

^d CV% = lognormal variationskoefficient i procent = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e Beregnet ved brug af den samlede variabilitet fra SAS MIXED-proceduren.

Bemærk! Tabellen inkluderer kun resultater med detekterbart DNA-niveau. SD = standardafvigelse. CV = variationskoefficient og BKV = BK-virus

cobas® BKV viste acceptabel klinisk reproducerbarhed ved koncentrationer i hele det lineære interval. Derudover detekterede systemet 100 % af prøverne med $3 \times \text{LLoQ}$. cobas® 6800 og cobas® 8800 Systems deler moduldesign, og de påviste ækvivalens ved brug af cobas® BKV. Alle de estimerede 95 % konfidensgrænser (CL'er) for forskellen mellem 2 målinger fra den samme person var inden for $\pm 0,84 \log_{10}$ IU/ml, hvilket indikerer, at analysen kan vurdere ændringer i BKV DNA-niveauer, der antages at være klinisk signifikante.

Af de 270 valide test for de negative panelmedlemmer udført på cobas® 6800/8800 Systems viste alle prøver resultatet "Target Not Detected", og den negative procentoverensstemmelse (NPA) var derfor 100 % med 95 % eksakt CI på 98,6 % til 100 %.

Performance for cobas® BKV for EDTA-plasmaprøvetypen

Den kliniske performance for cobas® BKV blev yderligere evalueret på tre testlokaliteter ved måling af BKV DNA-niveauer i kliniske prøver (ufortyndede og fortyndede) fra BKV-inficerede og ikke inficerede patienter og konstruerede EDTA-plasmaprøver tilsat dyrket BKV-virus, sammenlignet med en fastlagt laboratorieudviklet nukleinsyretest (LDT) (komparator-BKV LDT). Ud af alle de prøver, der blev testet med cobas® BKV og komparator-BKV-testen, var der i alt 550 prøver (217 ufortyndede og 303 fortyndede kliniske prøver fra 129 transplanterede personer og 30 konstruerede prøver), der var valide på begge analyser og evaluerbare for den kliniske overensstemmelsesanalyse (Tabel 27).

Tabel 27 Analyse af overensstemmelse mellem cobas® BKV og komparator-LDT på BKV DNA-niveauresultater for alle prøver

cobas® BKV (log ₁₀ IE/ml)	Komparator-BKV LDT (log ₁₀ IE/ml) Target Not Detected	Komparator-BKV LDT (log ₁₀ IE/ml) < LLoQ (< 2,3)	Komparator-BKV LDT (log ₁₀ IE/ml) 2,3 til < 3,0	Komparator-BKV LDT (log ₁₀ IE/ml) 3,0 til < 3,7	Komparator-BKV LDT (log ₁₀ IE/ml) 3,7 til 4,4	Komparator-BKV LDT (log ₁₀ IE/ml) > 4,4	I alt
Target Not Detected	107	7	5	0	0	0	119
< LLoQ (< 2,3)	23	51	39	0	0	0	113
2,3 til < 3,0	0	3	40	62	1	0	106
3,0 til < 3,7	0	0	1	71	42	0	114
3,7 til 4,4	0	0	0	0	26	26	52
> 4,4	0	0	0	0	1	45	46
I alt	130	61	85	133	70	71	550
Overensstemmelse i kolonne (%)	(130/130) 100,0 %	(61/61) 100,0 %	(80/85) 94,1 %	(133/133) 100,0 %	(69/70) 98,6 %	(71/71) 100,0 %	-
(95 % score for CI) ^a	(97,1 %, 100 %)	(94,1 %, 100,0 %)	(87,0 %, 97,5 %)	(97,2 %, 100,0 %)	(92,3 %, 99,7 %)	(94,9 %, 100,0 %)	-

Bemærk! CI = konfidensinterval; LLoQ = nedre kvantificeringsgrænse for komparator-BKV LDT (200 IU/ml = 2,3 log₁₀ IU/ml). Standardafvigelse (SD) for komparator-BKV LDT estimeret til 0,37 log₁₀ IU/ml (fra Indiana University's analytiske præcisionsundersøgelse for BKV LDT).

Analytikoncentration på 3,0 log₁₀ IU/ml repræsenterede LLoQ + 2σ, 3,7 log₁₀ IU/ml repræsenterede LLoQ + 4σ, og 4,4 log₁₀ IU/ml repræsenterede LLoQ + 6σ med et områdeinterval på 2σ. Parrede prøver, der var evaluerbare for klinisk overensstemmelsesanalyse, blev inkluderet i denne tabel.

^a Antaget uafhængighed mellem alle prøver.

Afvigende resultater blev defineret som resultater, der er mere end én boks væk fra diagonalen (angivet med skyggelægning). For "Target Not Detected" (TND) efter LDT-kolonneoverensstemmelse blev celler med cobas® BKV "Target Not Detected" og < LLoQ (< 2,3) kombineret. Begrundelsen for at tilføje tilstødende < LLoQ- og TND-celler til TND-kolonnen er, at forskellen mellem TND og < LLoQ ikke er klinisk meningsfuld, og at disse er analytisk i den lave ende af måleintervallet, hvilket kan påvirkes af en vilkårlig fejl.

Ud af 43 BKV DNA-negative prøver, der blev indsamlet til vurdering af NPA med cobas® BKV, var alle 43 prøver negative med cobas® BKV, og derfor var NPA 100 % med 95 % eksakt CI på 91,8 % til 100 %.

Overensstemmelsen mellem cobas® BKV og komparator-BKV LDT blev også evalueret ved brug af forskellige kliniske grænser (Tabel 28).

Tabel 28 Oversigt over overensstemmelse for **cobas®** BKV og komparator-BKV LDT ved brug af forskellige grænser for alle prøver

Grænser*	Procentoverensstemmelse < grænse	Procentoverensstemmelse ≥ grænse
	95 % CI (n/N)	95 % CI (n/N)
Target Not Detected	82,3 % (107/130) (74,8 %, 87,9 %)	97,1 % (408/420) (95,1 %, 98,4 %)
LLOQ (2,3 log ₁₀ IE/ml)	98,4 % (188/191) (95,5 %, 99,5 %)	87,7 % (315/359) (83,9 %, 90,7 %)
3,0 log ₁₀ IE/ml	99,6 % (275/276) (98,0 %, 99,9 %)	77,0 % (211/274) (71,7 %, 81,6 %)
4,0 log ₁₀ IE/ml	100,0 % (447/447) (99,1 %, 100,0 %)	67,0 % (69/103) (57,4 %, 75,3 %)

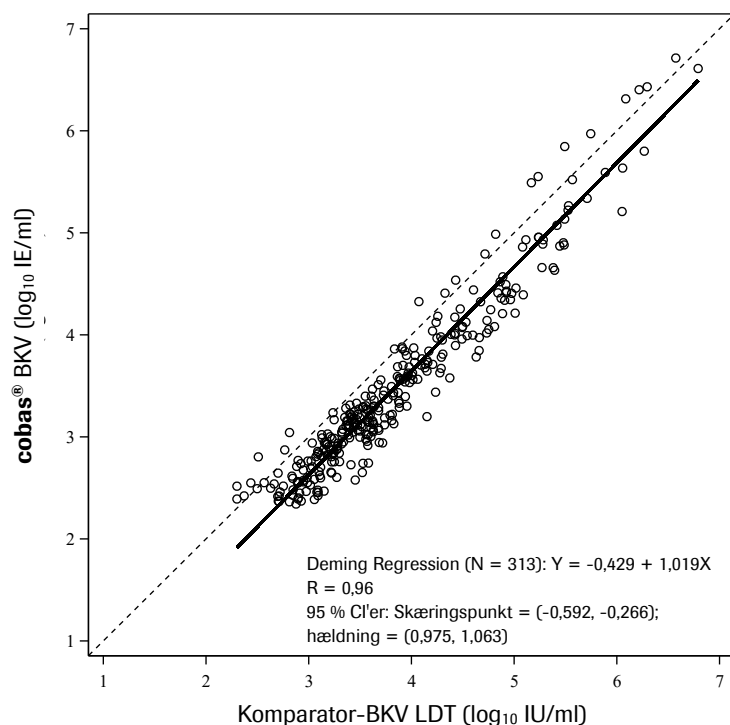
Bemærk! Prøver med resultatet "Target Not Detected" blev kategoriseret som "< grænseværdi i IE/ml".

LLOQ = nedre kvantificeringsgrænse for komparator-BKV LDT (200 IU/ml = 2,3 log₁₀ IU/ml).

95 % konfidensinterval (CI) beregnet med Score-metoden med antaget uafhængighed mellem alle prøver.

* Grænser på 1000 IU/ml = 3,0 log₁₀ IU/ml og 10.000 IU/ml = 4,0 log₁₀ IU/ml.

Ud af alle de prøver, der blev testet med **cobas®** BKV, der var BKV-positive med komparator-BKV-testen, var der i alt 313 prøver (133 ufortyndede og 159 fortyndede kliniske prøver fra 68 transplanterede personer og 21 konstruerede prøver), der var evaluerbare for korrelationsanalysen på de tre testlokaliteter (Figur 9).

Figur 9 Korrelation mellem **cobas®** BKV og komparator-BKV LDT for alle prøver: Lineært punktdiagram med Deming-regression for DNA-niveauer (log₁₀ IU/ml)

Punktdiagrammet til analyse af yderligere bias for DNA-niveauforskelle indikerede en systematiske forskel mellem begge analyser, der er konstant på tværs af det overlappende lineære interval. Det 95 % CI for skæringspunktet for den angivne linje i punkterne i punktdiagrammet for bias var (-0,404 til -0,168), hvilket er inden for $\pm 0,74 \log_{10}$ IU/ml (± 2 gange den analytiske præcisionsstandardafvigelse for komparator-BKV LDT). Derudover blev den gennemsnitlige bias estimeret til $-0,357 \log_{10}$ IU/ml, og ved brug af ligningen for den angivne linje i punkterne i punktdiagrammet for bias, var den systematiske forskel mellem begge analyser $-0,343 \log_{10}$ IU/ml og $-0,362 \log_{10}$ IU/ml for prøver med DNA-niveauer på hhv. 3 og 4 $\log_{10}$ IU/ml.

Reproducerbarhed af cobas® BKV for den stabiliserede urinprøvetype

Reproducerbarheden af cobas® BKV blev evalueret på tværs af faktorer (reagenslot, testlokalitet, batch og testdage), der kan påvirke de rapporterede resultater ved rutinemæssig klinisk testning. Evalueringen blev foretaget på 3 testlokaliteter, med 3 reagenslots samt med et positivt og negativt prøvepanel med et samlet antal på 270 test pr. koncentration (uden inkludering af kontroller). Panelerne bestod af urin, der var stabiliseret med cobas® PCR Media, der blev bekræftet negativ for BKV DNA ved brug af en frigivelsesprotokol for urin-nukleinsyretest (NAT) og tilsat BKV WHO International Standard, eller BKV-genotype Ia-dyrket virus-DNA. To brugere på hver lokalitet testede hvert reagenslot over 5 dage. Der blev udført to kørsler (1 kørsel = 1 batch; 1 batch = 1 panel + 3 kontroller) hver dag, og der blev foretaget 3 replikater for hvert panelmedlem for hver kørsel. Evalueringsresultaterne er opsummeret i Tabel 29.

Tabel 29 Tildelt total variationsprocent (%TV), samlet præcisionsstandardafvigelse (SD) og lognormal CV (%) af BKV DNA-koncentration ($\log_{10}$ IE/ml) efter positivt panelmedlem (stabiliseret urin)

Forventet BKV DNA-koncentration	Observeret gennemsnitlig BKV DNA-koncentration	Antal tests ^b	Lot %TV ^c (CV%) ^d	Sted %TV ^c (CV%) ^d	Dag/bruger %TV ^c (CV%) ^d	Batch %TV ^c (CV%) ^d	Inden for batch %TV ^c (CV%) ^d	Samlet præcision SD ^e	Samlet præcision CV (%) ^d
2,78	2,92	270	59 % (12,64)	0 % (1,15)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	40 % (10,41)	0,071	16,47
3,70	3,78	270	47 % (8,14)	2 % (1,62)	8 % (3,31)	0 % (0,00)	43 % (7,72)	0,051	11,83
4,70	4,80	270	38 % (5,02)	2 % (1,28)	6 % (2,07)	0 % (0,00)	53 % (5,96)	0,035	8,17
5,70	5,70	270	21 % (3,12)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	79 % (6,12)	0,030	6,87
7,70	7,69	270	2 % (1,51)	19 % (4,84)	6 % (2,79)	0 % (0,00)	73 % (9,53)	0,048	11,17

Bemærk! Tabellen inkluderer kun resultater med detekterbart DNA-niveau. SD = standardafvigelse; CV = variationskoefficient i procent; BKV = BK-virus.

^a Beregnet ved hjælp af SAS MIXED-proceduren.

^b Antal valide test med detekterbart DNA-niveau.

^c %TV = bidrag til samlet variation i procent.

^d CV% = lognormal variationskoefficient i procent = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e Beregnet ved brug af den samlede variabilitet fra SAS MIXED-proceduren.

cobas® BKV viste acceptabel klinisk reproducerbarhed ved koncentrationer i hele det lineære interval. Derudover detekterede systemet 100 % af prøverne med $3 \times \text{LLOQ}$. cobas® 6800 og cobas® 8800 Systems deler moduldesign, og de påviste ækvivalens ved brug af cobas® BKV. Alle de estimerede 95 % konfidensgrænser (CL'er) for forskellen mellem 2 målinger fra den samme person var inden for $\pm 0,20 \log_{10}$ IU/ml, hvilket indikerer, at analysen kan vurdere ændringer

i BKV DNA-niveauer, der antages at være klinisk signifikante. Systemet viste en negativ procentoverensstemmelse på 99,26 % med et CI på 97,3-99,9 %. Af de 270 valide test for de negative panelmedlemmer, viste 2 prøver (0,74 %) et DNA-niveau på < LLoQ positivitet. Yderligere undersøgelser af disse resultater viste, at de ikke var tilknyttet et/en bestemt instrument/lokalitet eller reagenslot. Yderligere DNA-sekventering bekræftede tilstedeværelsen af BKV. De identificerede BKV-sekvenser var forskellige fra sekvenserne for den positive kontrol og den BKV-stamme, der blev anvendt til panelforberedelsen, med udelukkelse af kontaminering under panelforberedelse og antydning af trace-viræmi i en af de 25 urinprøver for de poolede urinprøver, der blev brugt til forberedelse af det negative panel.

Performance for cobas® BKV for den stabiliserede urinprøvetype

Den kliniske performance for cobas® BKV blev yderligere evalueret på tre testlokaliteter ved måling af BKV DNA-niveauer i kliniske prøver fra BKV-inficerede og ikke inficerede patienter stabiliseret i cobas® PCR Media, sammenlignet med en fastlagt LDT (komparator-BKV LDT).

Ud af alle de prøver, der blev testet med cobas® BKV og komparator-BKV-testen, var der i alt 308 ufortyndede urinprøver, der var stabiliseret i cobas® PCR Media, fra 84 transplanterede personer, der var valide på begge analyser og evaluerbare for den kliniske overensstemmelsesanalyse (Tabel 30).

Tabel 30 Analyse af overensstemmelse mellem resultater for cobas® BKV og komparator-LDT på BKV DNA-niveau ($\log_{10}$ IU/ml) for alle prøver (stabiliseret urin)

cobas® BKV ($\log_{10}$ IE/ml)	Komparator- BKV LDT Target Not Detected	Komparator- BKV LDT < LLoQ (< 3,0)	Komparator- BKV LDT 3,0 til < 3,3	Komparator- BKV LDT 3,3 til < 3,6	Komparator- BKV LDT 3,6 til 3,9	Komparator- BKV LDT > 3,9	I alt
Target Not Detected	62	6	0	0	0	0	68
< LLoQ (< 3,0)	4	22	0	0	0	1	27
3,0 til < 3,3	0	2	0	0	0	0	2
3,3 til < 3,6	0	0	6	3	0	0	9
3,6 til 3,9	0	0	2	11	10	0	23
> 3,9	0	0	0	2	8	169	179
I alt	66	30	8	16	18	170	308
Overensstemmel- se i kolonne (%)	(66/66) 100,0 %	(30/30) 100,0 %	(6/8) 75,0 %	(14/16) 87,5 %	(18/18) 100,0 %	(169/170) 99,4 %	-
(95 % score for CI) ^a	(94,5 %, 100,0 %)	(88,6 %, 100,0 %)	(40,9 %, 92,9 %)	(64,0 %, 96,5 %)	(82,4 %, 100,0 %)	(96,7 %, 99,9 %)	-

Bemærk! CI = konfidensinterval; LLoQ = nedre kvantificeringsgrænse for komparator-BKV LDT (1000 IU/ml = 3,0 $\log_{10}$ IU/ml); LDT = laboratorieudviklede test; BKV = BK-virus.

Standardafvigelse (SD) for komparator-BKV LDT estimeret til 0,15 $\log_{10}$ IU/ml (evalueringsundersøgelse for komparator-BKV LDT).

Analytkoncentration på 3,3 $\log_{10}$ IU/ml repræsenterede LLoQ + 2 σ , 3,6 $\log_{10}$ IU/ml repræsenterede LLoQ + 4 σ , og 3,9 $\log_{10}$ IU/ml repræsenterede LLoQ + 6 σ med et områdeinterval på 2 σ .

Parrede prøver, der var evaluerbare for klinisk overensstemmelsesanalyse, blev inkluderet i denne tabel.

^a Antaget uafhængighed mellem alle prøver.

DNA-sekventering på repræsentative prøver fra personer med resultater, der var konsekvent forskudt med mere end 1 log₁₀ IU/ml DNA-niveau, fandt ikke nogen uoverensstemmelser for sekvenser for primer- eller probe-targets for cobas® BKV-analysen. Afvigende resultater blev defineret som resultater, der er mere end én boks væk fra diagonalen (angivet med skyggelægning). For "Target Not Detected" (TND) efter LDT-kolonneoverensstemmelse blev celler med cobas® BKV "Target Not Detected" og < LLoQ (< 3,0) kombineret. Begrundelsen for at tilføje tilstødende < LLoQ- og TND-celler til TND-kolonnen er, at forskellen mellem TND og < LLoQ ikke er klinisk meningsfuld, og at disse er analytisk i den lave ende af måleintervallet, hvilket kan påvirkes af en vilkårlig fejl. Ud af 66 BKV DNA-negative prøver, der blev indsamlet til vurdering af NPA med cobas® BKV, gav 61 valide resultater, hvor alle 61 prøver var negative med cobas® BKV, og derfor var NPA 100 % med 95 % eksakt CI på 94,1 % til 100 %.

Overensstemmelsen mellem cobas® BKV og komparator-BKV LDT blev også evalueret ved brug af forskellige kliniske grænser (Tabel 31).

Tabel 31 Oversigt over overensstemmelse for cobas® BKV og komparator-BKV LDT ved brug af forskellige grænser for alle prøver (stabiliseret urin)

Grænse*	Procentoverensstemmelse < grænse 95 % CI (n/N)	Procentoverensstemmelse ≥ grænse 95 % CI (n/N)
Target Not Detected	93,9 % (62/66) (85,4 %, 97,6 %)	97,5 % (236/242) (94,7 %, 98,9 %)
LLoQ (3,0 log ₁₀ IE/ml)	97,9 % (94/96) (92,7 %, 99,4 %)	99,5 % (211/212) (97,4 %, 99,9 %)
4,0 log ₁₀ IE/ml	90,9 % (130/143) (85,1 %, 94,6 %)	99,4 % (164/165) (96,6 %, 99,9 %)
7,0 log ₁₀ IE/ml	97,2 % (242/249) (94,3 %, 98,6 %)	94,9 % (56/59) (86,1 %, 98,3 %)

Bemærk! Prøver med resultatet "Target Not Detected" blev kategoriseret som "< grænseværdi i IE/ml".

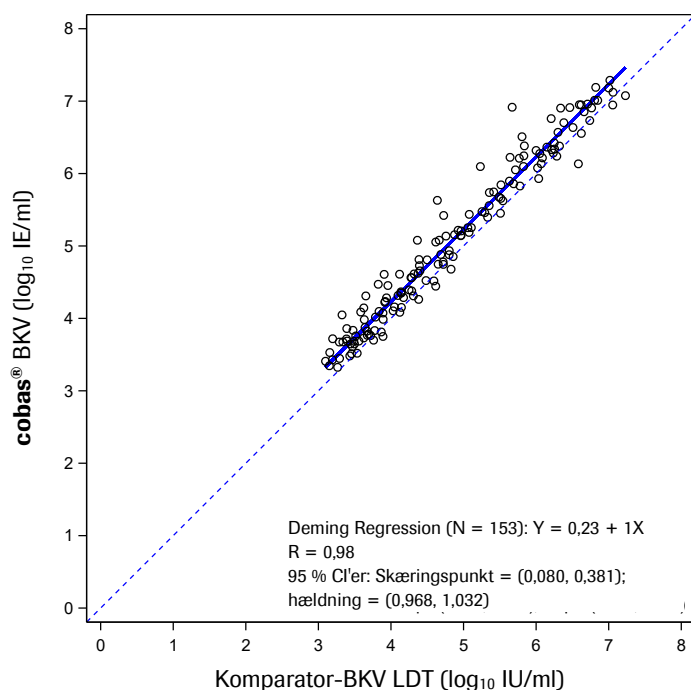
LLoQ = nedre kvantificeringsgrænse for komparator-BKV LDT (1000 IU/ml = 3,0 log₁₀ IU/ml).

95 % konfidensinterval (CI) beregnet med Score-metoden med antaget uafhængighed mellem alle prøver.

* Grænser på 10.000 IU/ml = 4,0 log₁₀ IU/ml og 10.000.000 IU/ml = 7,0 log₁₀ IU/ml.

Ud af alle de prøver, der blev testet med cobas® BKV, der var BKV-positive med komparator-BKV-testen, var der i alt 153 prøver ufortyndede urinprøver i cobas® PCR Media fra 55 transplanterede personer, der var evaluerbare for korrelationsanalysen på de tre testlokaliteter (Figur 10).

Figur 10 Korrelation mellem **cobas®** BKV og komparator-BKV LDT for alle prøver: Lineært punktdiagram med Deming-regression for DNA-niveauer ($\log_{10}$ IU/ml) (stabiliseret urin)



Punktdiagrammet til analyse af yderligere bias for DNA-niveauforskelle indikerede en systematisk forskel mellem begge analyser, der er konstant på tværs af det overlappende lineære interval. Det 95 % CI for skæringspunktet for den angivne linje i punkterne i punktdiagrammet for bias var (0,168 til 0,488), hvilket er inden for $\pm 0,5 \log_{10}$ IU/ml. Derudover blev den gennemsnitlige bias estimeret til $0,231 \log_{10}$ IU/ml, og ved brug af ligningen for den angivne linje i punkterne i punktdiagrammet for bias, var den systematiske forskel mellem begge analyser $0,248 \log_{10}$ IU/ml og $0,188 \log_{10}$ IU/ml for prøver med DNA-niveauer på hhv. $4 \log_{10}$ IU/ml og $7 \log_{10}$ IU/ml.

Systemækvivalens/systemsammenligning

Systemækvivalensen for **cobas®** 5800, **cobas®** 6800 og **cobas®** 8800 Systems blev påvist via performance-undersøgelser. Resultaterne, der er præsenteret i brugsanvisningen, understøtter tilsvarende ækvivalent performance for alle systemer.

Yderligere oplysninger

Vigtige testfunktioner

Prøvetype	EDTA-plasma	Urinprøver stabiliseret i cobas® PCR Media
Mindste påkrævede prøvemængde	350 µl*	550 µl*
Prøveanalyseringsvolumen	200 µl	400 µl
Analytisk sensitivitet	21,5 IE/ml (tosidet 95 % konfidensinterval: 16,3-32,4 IE/ml)	12,2 IE/ml (tosidet 95 % konfidensinterval: 9,2-18,3 IE/ml)
Lineært interval	21,5 IE/ml til 1E+08 IE/ml	200 IE/ml til 1E+08 IE/ml
Specificitet	100 %	100 %
Detekterede undertyper	BKV-undertype I (med undergrupperne Ia, Ib og Ic), II, III og IV	

* Dødvolumen på 150 µl identificeret for sekundære **cobas® omni**-rør. Andre rør, der bruges til testning, kan have en anden dødvolumen og kræve mere eller mindre minimumsvolumen. Kontakt Roche service for at få yderligere oplysninger.

Symboler

Følgende symboler anvendes på etiketter til Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tabel 32 Symboler, der er anvendt på etiketter til Roche PCR-diagnostiske produkter

Age/DOB	Alder eller fødselsdato		Udstyr, der ikke er til patientnær test	QS IU/PCR	QS IE pr. PCR-reaktion. Brug QS internationale enheder (IE) pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.
	Hjælpesoftware		Udstyr, der ikke er til selvtest	SN	Serienummer
Assigned Range [copies/mL]	Tildelt interval (kopier/mL)		Distributør (Bemærk! Gældende land/region kan være angivet under symbolet.)	Site	Sted
Assigned Range [IU/mL]	Tildelt interval (IE/mL)		Må ikke genbruges	Procedure Standard	Standardprocedure
EC REP	Autoriseret repræsentant i EF		Kvinder	STERILE EO	Steriliseret med ethylenoxid
BARCODE	Barkodedataark		Kun til evaluering af IVD-performance		Opbevares mørkt
LOT	Batchkode	GTIN	Global Trade Item Number		Temperaturbegrænsning
	Biologisk fare		Importør		Testdefinitionsfil
REF	Katalognummer	IVD	Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik		Denne side op
	CE-overensstemmelsesmærkning: Denne enhed stemmer overens med de gældende krav for CE-mærkning af medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	LLR	Nedre grænse for tildelt interval	Procedure UltraSensitive	Ultrasensitive-procedure
Collect Date	Prøvetagningsdato		Mænd	UDI	Unik udstyrsidentifikation
	Se brugsanvisning		Producent	ULR	Øvre grænse for tildelt interval
	Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests	CONTROL -	Negativ kontrol	Urine Fill Line	Urinpåfyldningslinje
CONTENT	Indhold i pakning		Usteril	Rx Only	Kun USA: Ifølge amerikansk lovgivning må denne enhed kun sælges af eller efter anmodning fra en læge.
CONTROL	Kontrol		Patientnavn		Sidste anvendelsesdato
	Fremstillingsdato		Patientnummer		
	Udstyr til patientnær test		Riv her		
	Udstyr til selvtest	CONTROL +	Positiv kontrol		
		QS copies / PCR	QS kopier pr. PCR-reaktion. Brug QS kopier pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.		

Teknisk support

Kontakt den lokale afdeling for teknisk support (assistance):
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Producent og importør

Tabel 33 Producent og importør



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Fremstillet i USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Varemærker og patenter

Se <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Copyright

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referencer

1. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. Preface. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44:453-5. PMID: 19861977.
2. Green M. Introduction: Infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:3-8. PMID: 23464993.
3. Morel V, Martin E, Francois C, et al. A Simple and Reliable Strategy for BK Virus Subtyping and Subgrouping. *J Clin Microbiol*. 2017;55:1177-85. PMID: 28151406.
4. Egli A, Infanti L, Dumoulin A, et al. Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors. *J Infect Dis*. 2009;199:837-46. PMID: 19434930.
5. Pinto M, Dobson S. BK and JC virus: a review. *J Infect*. 2014;68 Suppl 1:S2-8. PMID: 24119828.
6. Hirsch HH, Randhawa PS, AST Infectious Diseases Community of Practice. BK polyomavirus in solid organ transplantation-Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant*. 2019;33:e13528. PMID: 30859620.
7. Ambalathingal GR, Francis RS, Smyth MJ, Smith C, Khanna R. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30:503-28. PMID: 28298471.
8. Yamada Y, Tsuchiya T, Inagaki I, Seishima M, Deguchi T. Prediction of Early BK Virus Infection in Kidney Transplant Recipients by the Number of Cells With Intranuclear Inclusion Bodies (Decoy Cells). *Transplant Direct*. 2018;4:e340. PMID: 29464201.
9. Nickeleit V, Singh HK. Polyomaviruses and disease: is there more to know than viremia and viruria? *Curr Opin Organ Transplant*. 2015;20:348-58. PMID: 25933251.
10. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
11. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
12. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
14. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
17. Goetsch HE, Zhao L, Gnegy M, et al. Fate of the Urinary Tract Virus BK Human Polyomavirus in Source-Separated Urine. *Appl Environ Microbiol*. 2018;84. PMID: 29374036.
18. Boan P, Hewison C, Swaminathan R, et al. Optimal use of plasma and urine BK viral loads for screening and predicting BK nephropathy. *BMC Infect Dis*. 2016;16:342. PMID: 27448566.

Dokumentrevision

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc Rev. 2.0 09/2022	Forside og tabel 2 og 3 er opdateret med yderligere produktnumre (P/N) for kontrolkittene. Afsnittet Varemærker og patenter er opdateret, herunder også linket. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.
Doc Rev. 3.0 05/2023	Minimumsprøvevolumen er rettet til det originale niveau angivet i afsnittet Brugsanvisning og Vigtige testfunktioner. Erklæring vedrørende kompetent myndighed er opdateret. Manglende fodnote er tilføjet i tabel 20. Mindre ændring af ordlyden. cobas®-branding er opdateret. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.

Du kan finde rapporten med oversigten over sikkerhed og performance ved hjælp af følgende link:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.