

cobas[®] BKV

Количествен тест за нуклеинова киселина за употреба със системи cobas[®] 5800/6800/8800

За in vitro диагностика

cobas[®] BKV

P/N: 09040960190

За употреба със система cobas[®] 5800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

За употреба със системи cobas[®] 6800/8800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 или
P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 или
P/N: 09051953190

Съдържание

Предназначение.....	5
Кратко изложение и обяснение на теста	5
Реактиви и материали.....	8
Реактиви и контроли за cobas® BKV	8
Реактиви cobas® omni за подготовка на пробите.....	11
Изисквания за съхранение и работа с реактивите	12
Изисквания за работа с реактиви за система cobas® 5800 или системи cobas® 6800/8800.....	12
Допълнителни материали, необходими за системите cobas® 5800/6800/8800	13
Необходима апаратура и софтуер	15
Предпазни мерки и изисквания за работа	15
Предупреждения и предпазни мерки.....	15
Боравене с реактиви	16
Добра лабораторна практика	17
Вземане, транспортиране и съхранение на пробите	17
Проби от EDTA плазма.....	17
Проби от урина.....	18
Инструкции за употреба	20
Бележки по процедурата	20
Обработка на cobas® BKV на системи cobas® 5800/6800/8800	20
Резултати.....	23
Контрол на качеството и валидност на резултатите на система cobas® 5800 и системи cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 2.0 или по-висока.....	23
Контрол на качеството и валидност на резултатите при системи cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 1.4	24
Флагове на контролите на системите cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 1.4.....	24
Интерпретация на резултатите за системи cobas® 5800/6800/8800.....	25
Интерпретация на резултатите на система cobas® 5800 и cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 2.0 или по-висока	25

Интерпретация на резултатите на системи cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 1.4	26
Ограничения на процедурата.....	26
Оценка на неклиничните характеристики.....	27
Еквивалентност на системите	27
Основни характеристики за тип проби от EDTA плазма.....	27
Международен стандарт на СЗО за граница на откриване (LoD)	27
Линеен диапазон	28
Точност — в рамките на лабораторията.....	29
Потвърждаване на подтипа	30
Специфичност	30
Аналитична специфичност	30
Аналитична специфичност — интерфериращи вещества.....	32
Корелация на метода	32
Нефункциониране на цялата система	33
Кръстосано замърсяване	33
Основни характеристики за тип проби от урина.....	34
Международен стандарт на СЗО за граница на откриване (LoD)	34
Линеен диапазон	35
Точност — в рамките на лабораторията.....	36
Потвърждаване на подтипа	36
Специфичност	37
Аналитична специфичност	37
Аналитична специфичност — интерфериращи вещества.....	38
Корелация на метода	40
Кръстосано замърсяване	40
Оценка на клиничните характеристики	41
Възпроизводимост на cobas® BKV за проба от EDTA плазма	41
Действие на cobas® BKV за проба от EDTA плазма.....	42
Възпроизводимост на cobas® BKV за проба от стабилизирана урина.....	44
Действие на cobas® BKV за проба от стабилизирана урина.....	46

Допълнителна информация	49
Основни характеристики на теста	49
Символи	50
Техническа поддръжка	51
Производител и вносител	51
Търговски марки и патенти.....	51
Авторско право.....	51
Използвана литература.....	52
Издание на документа.....	53

Предназначение

cobas® BKV е *in vitro* тест за амплификация на нуклеинови киселини за количествено определяне на ДНК на ВК вирус (BKV) в човешка EDTA плазма и урина, стабилизирани в **cobas® PCR Media**.

В EDTA плазма **cobas® BKV** е предназначен за използване като помощно средство при диагностицирането и контролирането на ВКВ при пациенти с трансплантация. При пациенти, подложени на наблюдение на ВКВ в EDTA плазма, могат да се използват серийни измервания на ДНК, за да се посочи необходимостта от потенциални промени в лечението и за оценка на вирусния отговор към лечението.

В урината, стабилизирана в **cobas® PCR Media**, **cobas® BKV** е предназначен за използване като помощно средство при диагностицирането и лечението на ВКВ при пациенти с трансплантация.

Резултатите от **cobas® BKV** трябва да се интерпретират в контекста на всички свързани клинични и лабораторни находки.

cobas® BKV не е предназначен за употреба като скринингов тест за кръв или кръвни продукти.

Кратко изложение и обяснение на теста

Обща информация

Реципиентите при трансплантация са изложени на повишен риск от много вирусни и бактериални инфекции, които са по-склонни да причинят тежки неблагоприятни здравни резултати в групата на трансплантираните пациенти в сравнение с общата здравна популация. Този повишен риск отчасти се дължи на намалената функция на имунната система поради имunosупресивните лекарства, които пациентите с трансплантация приемат, за да се намали вероятността от отхвърляне на трансплантирания орган.^{1,2}

ВК вирусът (BKV) е малък (~5 kb) вирус на дезоксирибонуклеинова киселина (ДНК) без обвивка, принадлежащ към семейството на полиомавирусите. Има четири основни подтипа ВКВ, от които най-често откриваният е подтип I (80%), следван от подтип IV (15%).³ Серопревалентността на ВКВ е > 80% в общата здравна популация на възрастното население.⁴ При имунокомпетентни лица ВКВ не се свързва със значителна патология. Но ВКВ инфекцията може да причини тежко клинично заболяване при имунокомпрометирани лица, включително реципиенти при трансплантация.⁵

ВКВ инфекциите най-често се проявяват в бъбреците и пикочните пътища. След първична инфекция вирусът остава латентен в бъбречния тубуларен епител и епитела на уретера и може да бъде реактивиран при имунокомпрометирани индивиди. Пациентите с бъбречна трансплантация са изложени на по-висок риск от усложнения, свързани с ВКВ, в сравнение с реципиентите при други видове трансплантации, включително полиома вирусна нефропатия (PVN) и уретрална стеноза. PVN се среща при до 10% от реципиентите при бъбречна трансплантация и при около 50% от пациентите, засегнати от PVN, трансплантацията ще е неуспешна. В допълнение, приблизително 3% от реципиентите на бъбречна трансплантация развиват свързана с ВКВ уретрална стеноза.⁵ При трансплантациите на хемопоетични стволови клетки (HSCT) също се наблюдават усложнения, свързани с ВКВ, с по-висока честота, най-често под формата на хеморагичен цистит (HC). Между 5 и 15% от пациентите с HSCT страдат от HC.¹

Насоките препоръчват редовно проследяване на BKV при пациенти с бъбречна трансплантация до 5 години след трансплантацията.⁶ Този подход на проследяване може да идентифицира 80–90% от пациентите, изложени на риск от PVN. Плазменото тестване за BKV вiremия се препоръчва като част от стратегията за идентифициране на пациенти с повишен риск от PVN или като потвърждаващ тест за пациенти, при които е открита BKV вирусия, или като основен метод на тестване при рутинен скрининг.⁶ Понастоящем няма препоръки за рутинно проследяване на BKV при пациенти с HSCT и изследването се препоръчва предимно за оценка на пациенти с хематурия и клинични симптоми на цистит. Въпреки това, ниво на ДНК на BKV над 10 000 копия/ml е свързано с по-висок риск от НС при трансплантирани пациенти.⁷

За пациенти с бъбречна трансплантация, които имат постоянно повишение на нивата на ДНК на BKV в плазма, най-често дефинирано като измерване над 10 000 копия/ml, се препоръчва тестване за BKV в плазма на всеки 1–2 седмици, докато нивото на ДНК стигне неоткриваемо ниво при две последователни измервания.

Много лабораторни тестове за количествено определяне на BKV не са стандартизирани, което води до големи разлики в резултатите между различните лаборатории и анализи.^{6,7} В допълнение, съставките на урината могат да причинят BKV агрегация, което също може да повлияе на количествената вариабилност.^{8,9} Официалната оценка на възпроизводимостта и валидността на нивата на ДНК на BKV е от решаващо значение за осигуряване на съпоставими резултати (независимо в коя лаборатория е извършен анализът) за клинично управление на пациенти със заболявания, свързани с BKV.

Докато точният медицински релевантен вирусен праг все още е предмет на дебат поради разликата в резултатите при различните анализи, концепцията за критичния праг изглежда валидна и е докладвана в проучвания за естественото развитие на болестта, показващи, че по-високите нива на ДНК на BKV са свързани с повишен риск от развитие на PVN и НС.^{6,7}

Обосновка за NAT тестване

Серологичното изследване на полиомавирус не се използва рутинно в клинични условия; то е полезно само за определяне дали пациентът е бил заразен преди това с BKV и дали има риск от повторно активиране. Методите за култивиране на вируси имат дълъг период на изпълнение и тъй като са полуколичествени, имат ограничена употреба при имунокомпрометирани пациенти, където ниските нива на вируса са често срещани. Директното откриване на ДНК на BKV чрез PCR методи в реално време потенциално предлага широк динамичен диапазон, прецизност и оптимална чувствителност и специфичност за употреба при трансплантирани пациенти.

Обяснение на теста

cobas® BKV е количествен тест, който се провежда на системите **cobas® 5800/6800/8800**. **cobas® BKV** позволява откриването и количественото определяне на ДНК на BKV в EDTA плазма и урина, стабилизирана в **cobas® PCR Media** на инфектирани пациенти. Нивото на ДНК на BKV се определя количествено спрямо стандарт за количествено определяне на ДНК (DNA-QS), различна от BKV, който се въвежда във всяка проба по време на обработката на пробата. Освен това DNA-QS функционира и за наблюдение на целия процес на подготовка на пробата и PCR амплификацията. В допълнение тестът използва три външни контроли: положителна контрола с висок титър, положителна контрола с нисък титър и отрицателна контрола. Външните положителни контроли с висок титър и нисък титър се получават чрез разреждане от изходен материал с титър, проследим до 1-ви Международен стандарт на СЗО за BKV (NIBSC код: 14/212). Всяка партида от комплекти за амплификация/откриване е калибрирана и проследима до 1-ви Международен стандарт на СЗО за BKV (NIBSC код: 14/212).

Принципи на процедурата

cobas® BKV се базира на напълно автоматизирана подготовка на проби (извличане и пречистване на нуклеинова киселина), последвана от PCR амплификация и откриване. Системата **cobas® 5800** е проектирана като един цялостен апарат. Системата **cobas® 6800/8800** се състои от модул за доставка на проби, подаващ модул, обработващ модул и аналитичен модул. Автоматизираното управление на данните се извършва от софтуера на системите **cobas® 5800** или **cobas® 6800/8800**, който присвоява резултати от тестовете за всички тестове, при които или цел не е открита, или е открита ДНК на $BKV < LLoQ$ (долна граница на количествено определяне), или е открита ДНК на $BKV > ULoQ$ (горна граница на количествено определяне), или стойност в линейния диапазон $LLoQ < x < ULoQ$. Резултатите могат да се преглеждат директно на екрана на системата, да се експортират или разпечатат като отчет.

Нуклеинова киселина се извлича едновременно от проби на пациенти и добавени ламбда DNA-QS молекули. Най-общо, вирусната нуклеиновата киселина се освобождава чрез добавяне на протеиназа и лизисен реактив в пробата. Освободената нуклеинова киселина се свързва с покритата със силициев диоксид повърхност на добавените намагнетизирани стъклени частици. Несвързаните вещества и примеси, като денатуриран протеин, клетъчни остатъци и потенциални PCR инхибитори се отстраняват с последващи етапи на промиване с реактив и пречистената нуклеинова киселина се елуира от стъклени частици чрез елуиращ буфер при повишена температура.

Селективното амплифициране на целевата нуклеинова киселина от пробата се постига чрез използването на специфичен подход за двоен целеви вирус от високо консервативни региони на **BKV**, разположени в малък t-антиген регион на **BKV** и VP2 регион на **BKV**. Селективното амплифициране на DNA-QS се постига чрез използването на специфични за последователността прави и обратни праймери, които са избрани така, че да нямат съвпадение с генома на **BKV**. За амплификация се използва термостабилен ензим на ДНК полимераза. Целевите и DNA-QS секвенции се амплифицират едновременно с помощта на универсален профил за PCR амплификация с предварително зададени температурни стъпки и брой цикли. Еталонната смес включва дезоксиуридин трифосфат (dUTP) вместо дезокситимидин трифосфат (dTTP), който е включен в новосинтезираната ДНК (ампликон).¹⁰⁻¹² Всеки замърсяващ ампликон от предишни PCR тестове се елиминира от ензима AmpErase, който е включен в PCR сместа при нагряване в първата стъпка на термичната обработка. Въпреки това, новообразуваният ампликон не се елиминира, тъй като ензимът AmpErase се инактивира при излагане на температури над 55°C.

Еталонната смес **cobas® BKV** съдържа две детекторни сонди, специфични за **BKV** целеви последователности и една за DNA-QS. Сондите са маркирани със специфични за целта флуоресцентни репортерни багрила, позволяващи едновременно откриване на **BKV** цел и DNA-QS в два различни целеви канала.^{13, 14} Флуоресцентният сигнал на интактните сонди се потиска от гасително багрило. По време на стъпката на PCR амплификация, хибридизацията на сондата към определени шаблони на едноверижната ДНК води до разцепване от 5'-към-3' нуклеазната активност на ДНК полимеразата и в резултат на това репортерните и гасителните багрила се разделят и се генерира флуоресцентен сигнал. С всеки PCR цикъл се натрупват нарастващи количества разцепени сонди, като кумулативният сигнал на отчитащото багрило постоянно нараства. Откриването и диференциацията на PCR продуктите в реално време се постига чрез измерване на флуоресценцията на освободените репортерни багрила за вирусните цели и DNA-QS.

Реактиви и материали

Реактиви и контроли за cobas® BKV

Материалите, предоставени за cobas® BKV, могат да бъдат намерени в Таблица 1. Необходимите, но непредоставени материали могат да се намерят в Таблица 2 до Таблица 4 и Таблица 8 до Таблица 10.

Всички неотворени реактиви и контроли за анализ трябва да се съхраняват, както е препоръчано в Таблица 1 до Таблица 4.

Таблица 1 cobas® BKV

cobas® BKV

Съхранение при 2–8°C

Касета със 192 теста (P/N 09040960190)

Компоненти на комплекта	Съставки на реактива	Количество в комплект 192 теста
Протеиназен разтвор (PASE)	Трис буфер, < 0,05% EDTA, калциев хлорид, калциев ацетат, 8% протеиназа, глицерол EUN210: Информационни листове за безопасност се предлагат при поискване. EUN208: Съдържа субтилизин от <i>Bacillus subtilis</i> . Може да предизвика алергична реакция.	22,3 ml
Стандарт за количествено определяне на ДНК (DNA QS)	Трис буфер, < 0,05% EDTA, < 0,001% ДНК конструкция, различна от BKV, съдържаща свързване на праймер, различен от BKV, и уникален участък на сонда (неинфекциозна ДНК), < 0,002% Poly rA PHK (синтетична), < 0,1% натриев азид	21,2 ml
Елуентен буфер (EB)	Трис буфер, 0,2% метил-4 хидроксibenзоат	21,2 ml
Реактив еталонна смес 1 (MMX-R1)	Манганов ацетат, калиев хидроксид < 0,1% натриев азид	7,5 ml
BKV реактив еталонна смес 2 (BKV MMX-R2)	Трицинов буфер, калиев ацетат, < 18% диметилсулфоксид, глицерол, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% възходящи и низходящи BKV праймери, < 0,01% прави и обратни праймери на стандарт за количествено определяне, < 0,01% флуоресцентно белязани олигонуклеотидни сонди, специфични за BKV и стандарта за количествено определяне на BKV, < 0,01% олигонуклеотиден аптамер, < 0,01% Z05D ДНК полимеразата, < 0,10% ензим AmpErase (урацил-N-гликозилаза) (микробен), < 0,1% натриев азид	9,7 ml

Таблица 2 cobas® EBV/BKV Control Kit

cobas® EBV/BKV Control Kit

Съхранявайте при 2–8°C

За употреба със система cobas® 5800 и системи cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 2.0 или по-висока (P/N 09040951190)

За употреба със системи cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 1.4 (P/N 08688214190 или P/N 09040951190)

Компоненти на комплекта	Съставки на реактива	Количество в комплект	Символ и предупреждения за безопасност*
EBV/BKV ниска положителна контрола (EBV/BKV L(+))C)	< 0,001% синтетична (плазмидна) ДНК на BKV, капсулирана в протеин на обвивката на ламбда бактериофаг, нормална човешка плазма, ДНК на BKV не се открива чрез PCR методи < 0,1% ProClin® 300 консервант**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ H317: Може да причини алергична кожна реакция. H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект. P261: Избягвайте вдишване на прах/дим/газ/мъгла/изпарения/аерозоли. P273: Да се избягва изпускане в околната среда. P280: Използвайте предпазни ръкавици. P333 + P313: При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: потърсете медицински съвет/помощ. P362 + P364: Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба. P501: Съдържанието/съдът да се изхвърли в одобрено за целта съоръжение. 55965-84-9 Реакционна маса на: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).
EBV/BKV висока положителна контрола (EBV/BKV H(+))C)	< 0,001% синтетична (плазмидна) ДНК на BKV, капсулирана в протеин на обвивката на ламбда бактериофаг, нормална човешка плазма, ДНК на BKV не се открива чрез PCR методи < 0,1% ProClin® 300 консервант**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ H317: Може да причини алергична кожна реакция. H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект. P261: Избягвайте вдишване на прах/дим/газ/мъгла/изпарения/аерозоли. P273: Да се избягва изпускане в околната среда. P280: Използвайте предпазни ръкавици. P333 + P313: При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: потърсете медицински съвет/помощ. P362 + P364: Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба. P501: Съдържанието/съдът да се изхвърли в одобрено за целта съоръжение. 55965-84-9 Реакционна маса на: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

* Етикетирането относно безопасността на продукта следва основно указанията в Глобалната хармонизирана система за класифициране и етикетиране на химикали (GHS) в ЕС.

** Опасно вещество или смес.

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

Съхранявайте при 2–8°C

За употреба със система **cobas®** 5800 и системи **cobas®** 6800/8800 с версия на софтуера 2.0 или по-висока (P/N 09051953190)

За употреба със системи **cobas®** 6800/8800 с версия на софтуера 1.4 (P/N 07002238190 или P/N 09051953190)

Компоненти на комплекта	Съставки на реактива	Количество в комплект
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tris буфер, < 0,1% натриев азид, EDTA, 0,002% поли гА РНК (синтетична)	16 ml (16 × 1 ml)

Реактиви cobas® omni за подготовка на пробите

Таблица 4 Реактиви cobas® omni за подготовка на пробите

Реактиви	Съставки на реактива	Количество в комплект	Символ и предупреждения за безопасност*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Съхранявайте при 2–8°C (P/N 06997546190)	Намагнетизирани стъклени частици, трис буфер, 0,1% метил-4 хидроксibenзоат, < 0,1% натриев азид	480 теста	Не е приложимо
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Съхранявайте при 2–8°C (P/N 06997511190)	Tris буфер, 0,1% метил-4 хидроксibenзоат, < 0,1% натриев азид	4 × 875 ml	Не е приложимо
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Съхранявайте при 2–8°C (P/N 06997538190)	43% (w/w) гуанидин тиоцианат**, 5% (w/v) полидоканол**, 2% (w/v) дитиотреитол**, дихидро натриев цитрат EUN032: При контакт с киселини се отделя силно токсичен газ.	4 × 875 ml	 ОПАСНО H302 + H332: Вреден при поглъщане и вдишване. H314: Причинява тежки изгаряния на кожата и увреждане на очите. H411: Токсичен за водните организми, с дълготраен ефект. P273: Да се избягва изпускане в околната среда. P280: Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. P303 + P361 + P353: ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода. P304 + P340 + P310: ПРИ ВДИШВАНЕ: изведете лицето на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането. Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар. P305 + P351 + P338 + P310: ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължавайте да промивате. Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар. P391: Съберете разлятата течност. 593-84-0 Гуанидинтиоцианат 9002-92-0 Полидоканол 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-димеркаптобутан-2,3-диол
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Съхранявайте при 15–30°C (P/N 06997503190)	Натриев цитрат дихидрат, 0,1% метил-4 хидроксibenзоат	4,2 l	Не е приложимо

* Етикетирането относно безопасността на продукта следва основно указанията в Глобалната хармонизирана система за класифициране и етикетиране на химикали (GHS) в ЕС.

** Опасно вещество или смес.

Изисквания за съхранение и работа с реактивите

Реактивите трябва да се съхраняват и с тях да се работи, както е посочено в Таблица 5, Таблица 6 и Таблица 7.

Когато реактивите не са заредени в системата **cobas® 5800** или системите **cobas® 6800/8800**, трябва да се съхраняват при съответната температура, посочена в Таблица 5.

Таблица 5 Съхранение на реактив (когато реактивът не е в системата)

Реактив	Температура на съхранение
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

Изисквания за работа с реактиви за система **cobas® 5800** или системи **cobas® 6800/8800**

Реактивите, заредени в система **cobas® 5800** или системи **cobas® 6800/8800** се съхраняват при подходящи температури и срокът им на годност се следи и прилага от системата. Системата позволява реактивите да се използват само ако всички условия, посочени в Таблица 6, Таблица 7 и Таблица 8, са изпълнени. Системата автоматично блокира употребата на реактиви с изтекъл срок на годност. Информация за оставащата стабилност на отворен комплект и за броя на употребите на комплекта за специфични за анализа реактиви е достъпна чрез потребителския интерфейс на системата.

Таблица 6 Условия за изтичане на срока на годност на реактиви, проследявани и прилагани от системата **cobas® 5800**

Реактив	Стабилност на отворен комплект	Брой употреби на комплекта	Стабилност в апарата
cobas® BKV	90 дни след първата употреба	40	36 дни след зареждане
cobas® EBV/BKV Control Kit	флакон за еднократна употреба	8	36 дни след зареждане
cobas® Buffer Negative Control Kit	флакон за еднократна употреба	16	36 дни след зареждане

Таблица 7 Условия за изтичане на срока на годност на реактиви, проследявани и прилагани от системите **cobas® 6800/8800**

Реактив	Стабилност на отворен комплект	Брой употреби на комплекта	Стабилност в апарата (в апарата извън хладилник)
cobas® BKV	90 дни след първата употреба	40	40 часа след зареждане
cobas® EBV/BKV Control Kit	флакон за еднократна употреба	8	8 часа след зареждане
cobas® Buffer Negative Control Kit	флакон за еднократна употреба	16	10 часа след зареждане

Таблица 8 показва стабилността на отворен комплект на реактивите **cobas® omni**. Преди всяка обработка системата проверява стабилността на отворения комплект и осигурява достатъчен обем на напълване. По тази причина тези реактиви нямат зададен брой употреби на комплекта или стабилност в апарата.

Таблица 8 **cobas® omni** условие за изтичане на срока на годност на реактиви, проследявано и прилагано от системите **cobas® 5800/6800/8800**

Реактив	Стабилност на отворен комплект
cobas® omni Lysis Reagent	30 дни след зареждане
cobas® omni MGP Reagent	30 дни след първата употреба
cobas® omni Specimen Diluent	30 дни след зареждане
cobas® omni Wash Reagent	30 дни след зареждане

Допълнителни материали, необходими за системите **cobas® 5800/6800/8800**

Таблица 9 Материали за използване в системите **cobas® 5800/6800/8800**

Материал	P/N
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190

Таблица 10 Консумативи за използване в системата **cobas® 5800***

Материал
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
Накрайник CORE TIPS с филтър, 1 ml
Накрайник CORE TIPS с филтър, 300 µl
cobas® omni Liquid Waste Container
Сак за твърди отпадъци или сак за твърди отпадъци с вложка
16-позиционен S-държач за епруветки, цял
5-позиционен държач за поставки

* За номерата на частите, моля, вижте Съдействие за потребителя за система **cobas® 5800**.

Таблица 11 Консумативи за използване в системите **cobas® 6800/8800***

Материал
cobas® omni Processing Plate
cobas® omni Amplification Plate
cobas® omni Pipette Tips
cobas® omni Liquid Waste Container
Сак за твърди отпадъци и контейнер за твърди отпадъци или сак за твърди отпадъци с вложка и чекмедже за комплект
МРА ПОСТАВКА 16 ММ СВЕТЛОЗЕЛЕНА 2001-2050**,**

* За номерата на частите, моля, вижте Съдействие за потребителя за системите **cobas® 6800/8800**

** Свържете се с местния представител на Roche за подробен списък за поръчки за поставки за проби, поставки за крайници със съсиреци и плотове за поставки, подходящи за апаратите

*** МРА 16 mm поставки са предпочитаните поставки за употреба с пробите, взети в епруветки **cobas® PCR Media**.

Таблица 12 Комплекти за вземане на проби от урина, използвани с **cobas® BKV**

Комплект за вземане на проби	P/N
cobas® PCR Urine Sample Kit	05170486190
cobas® PCR Media Kit	06466281190
cobas® PCR Media Secondary Tube Kit*	07958048190
cobas® PCR Media Tube Replacement Cap Kit*	07958056190
Стойка за епруветки за еднократна употреба (опция)* cobas® PCR Media	07958064190

* Свържете се с местния представител на Roche за детайли

Забележка: комплектът за проби от урина **cobas® PCR Urine Sample Kit** се използва за вземане и транспортиране на проби от урина. Всеки комплект за проби от урина **cobas® PCR Urine Sample Kit** съдържа 100 пакета за проби от урина **cobas® PCR Urine Sample Packets**. Всеки пакет съдържа 1 пипета за еднократна употреба и 1 епруетка **cobas® PCR Media**, съдържаща 4,3 ml **cobas® PCR Media**. **cobas® PCR Media** служи като стабилизираща нуклеиновата киселина транспортна и съхраняваща среда за пробите от урина.

За проби от урина, изпратени директно в лабораторията без използването на комплект за проби от урина **cobas® PCR Urine Sample Kit** при вземането, като алтернатива може да се използва комплектът **cobas® PCR Media**, съдържащ 100 епруетки **cobas® PCR Media** (без пипети за еднократна употреба), като се има предвид, че урината трябва се прехвърли в рамките на 24 часа от вземането.

Необходима апаратура и софтуер

Трябва да бъде инсталиран софтуерът за **cobas® 5800**, софтуерът за **cobas® 6800/8800** и пакетът за анализ на **cobas® BKV (ASAP)** за системите **cobas® 5800/6800/8800**.

За софтуер версия 2.0 или по-висока на системите **cobas® 5800** и **cobas® 6800/8800** ще бъдат предоставени със системата софтуер **x800 Data Manager** и компютър (или сървър).

За софтуер версия 1.4 на системите **cobas® 6800/8800** ще бъде предоставен сървър **Instrument Gateway (IG)** със системата.

Таблица 13 Апаратура

Оборудване	P/N
Система cobas® 5800	08707464001
Система cobas® 6800	05524245001 и 09575154001
Система cobas® 8800	05412722001 и 09575146001
Модул за доставка на проби за системи cobas® 6800/8800	06301037001 и 09936882001

За допълнителна информация вижте система **cobas® 5800** или системи **cobas® 6800/8800** – Съдействие за потребителя

Забележка: свържете се с местния представител на Roche за подробен списък с поръчки за първични и вторични епруветки за проби, за доставки за проби, доставки за крайници със съсиреци и плотове за доставки, подходящи за апаратите.

cobas® BKV е подходящ за първичната епруветка, използвана за типовете проби от урина, събрани в **cobas® PCR Media**.

Предпазни мерки и изисквания за работа

Предупреждения и предпазни мерки

Както и при всички други аналитични процедури, използването на добра лабораторна практика е от първостепенно значение за правилното изпълнение на този анализ. Поради високата чувствителност на този тест трябва да се полагат грижи за предпазване на реактивите и амплификационните смеси от контаминация.

- Само за *in vitro* диагностика.
- **cobas® BKV** няма оценка за използване като скринингов тест за наличие на BKV в кръв или кръвни продукти.
- Всички проби от пациенти трябва да се третират като инфекциозен материал, като се следват процедурите за добра лабораторна работа, описани в „Биологична безопасност в микробиологични и биомедицински лаборатории“ и в документа M29-A4 на CLSI.^{15, 16} Тази процедура трябва да се извършва само от персонал, който е опитен в работата с инфекциозни материали и използването на **cobas® BKV** и системите **cobas® 5800/6800/8800**.
- Всички материали с човешки произход трябва да бъдат смятани за потенциално инфекциозни и с тях трябва да се борави при спазване на общоприетите предпазни мерки. В случай на разлив незабавно дезинфектирайте с прясно приготвен разтвор на 0,5% натриев или калиев хипохлорит в дестилирана или дейонизирана вода или изпълнете съответните процедури на центъра.

- Контролният комплект **cobas® EBV/BKV Control Kit** съдържа плазма, получена от човешка кръв. Изходният материал е тестван чрез PCR методи и показва приемливи следи от ниски нива на ДНК на BKV. Никой от известните тест методи не може да предложи пълна гаранция, че получените от човешка кръв продукти няма да пренесат инфекциозни агенти.
- **Не замразявайте пълна кръв или проби от урина, съхранявани в първични епруветки.**
- За постигане на оптималните характеристики на теста трябва да се използват само доставените или посочените необходими консумативи.
- Информационните листове за безопасност (SDS) могат да бъдат получени от местния представител на Roche при поискване.
- Спазвайте строго предоставените процедури и ръководни правила за гарантиране на правилното извършване на теста. Всяко отклонение от процедурите и ръководните правила може да повлияе на оптималното протичане на теста.
- Фалшиво положителни резултати може да се получат, ако по време на работата и обработването на пробите не бъде предотвратено кръстосаното замърсяване на проби.
- **cobas® PCR Media** (от първичната епруетка за проба) съдържа гуанидин хидрохлорид. **Не допускайте пряк контакт между гуанидин хидрохлорид и натриев или калиев хипохлорит, или други силно реактивни реактиви, като киселини или основи. Тези смеси могат да отделят вреден газ.**
- Ако бъде разлята течност, съдържаща гуанидин хидрохлорид, почистете с подходящ лабораторен детергент и вода. Ако разлятата течност съдържа потенциално инфекциозни агенти, **ПЪРВО** почистете засегнатата област най-напред с лабораторен детергент и вода, а след това и с 0,5% разтвор на натриев или калиев хипохлорит.
- Уведомете местния компетентен орган и производителя за всички сериозни инциденти, които може да възникнат при употребата на този анализ.

Боравене с реактиви

- Боравете с всички реактиви, контроли и проби съгласно добрата лабораторна практика, за да предотвратите кръстосаното замърсяване на проби или контроли.
- Преди употреба всяка касета с реактив, разреждател, лизисен реактив или реактив за промиване трябва да се проверят визуално за липса на признаци на изтичане. Ако има каквито и да са данни за изтичане, съответният материал да не се използва за теста.
- **cobas® omni Lysis Reagent** съдържа гуанидин тиоцианат, който е потенциално опасно химическо вещество. Да се избягва контакт на реактивите с кожата, очите или лигавиците. В случай на такъв контакт незабавно измийте с обилно количество вода. Ако не направите това, може да се получат изгаряния.
- Тестовите комплекти **cobas® BKV**, **cobas® omni MGP Reagent** и **cobas® omni Specimen Diluent** съдържат натриев азид като консервант. Да се избягва контакт на реактивите с кожата, очите или лигавиците. В случай на такъв контакт незабавно измийте с обилно количество вода. Ако не направите това, може да се получат изгаряния. Ако се получат разливания от тези реактиви, разреждете ги с вода, преди да ги подсушите.
- Не позволявайте на **cobas® omni Lysis Reagent**, който съдържа гуанидин тиоцианат, да влиза в контакт с разтвора на натриев или калиев хипохлорит. Тази смес може да образува силно токсичен газ.
- Всички материали, които са били в контакт с пробите и реактивите, трябва да се изхвърлят в съответствие с националните, щатските и локалните нормативни разпоредби.

Добра лабораторна практика

- Да не се пипетира с уста.
- Да не се консумират храна и напитки и да не се пуши в определените работни помещения.
- При работа с проби и реактиви от комплекта да се използват лабораторни ръкавици, лабораторно облекло и предпазни средства за очите. За да не се допусне замърсяване, ръкавиците трябва да се сменят между работа с пробите и комплектите **cobas® BКV**, **EBV/BКV Low Positive Control (EBV/BКV L(+))C**), **EBV/BКV High Positive Control (EBV/BКV H(+))C**), комплектите отрицателни контроли **cobas® Buffer Negative Control Kit** и реактивите **cobas® omni**. Да се избягва контаминиране на ръкавиците при работа с проби и контроли.
- Измивайте внимателно ръцете си след работа с пробите и комплектите реактиви, както и след сваляне на ръкавиците.
- Почистете щателно и дезинфектирайте всички лабораторни работни повърхности с прясно приготвен разтвор на 0,5% натриев или калиев хипохлорит в дестилирана или дейонизирана вода. След това изтрийте повърхността със 70% етанол.
- При възникване на разлив по апарата **cobas® 5800** или **cobas® 6800/8800** следвайте указанията в Съдействие за потребителя на системите **cobas® 5800** или **cobas® 6800/8800**, за да почистите и обеззаразите правилно повърхността на апарата(ите).

Вземане, транспортиране и съхранение на пробите

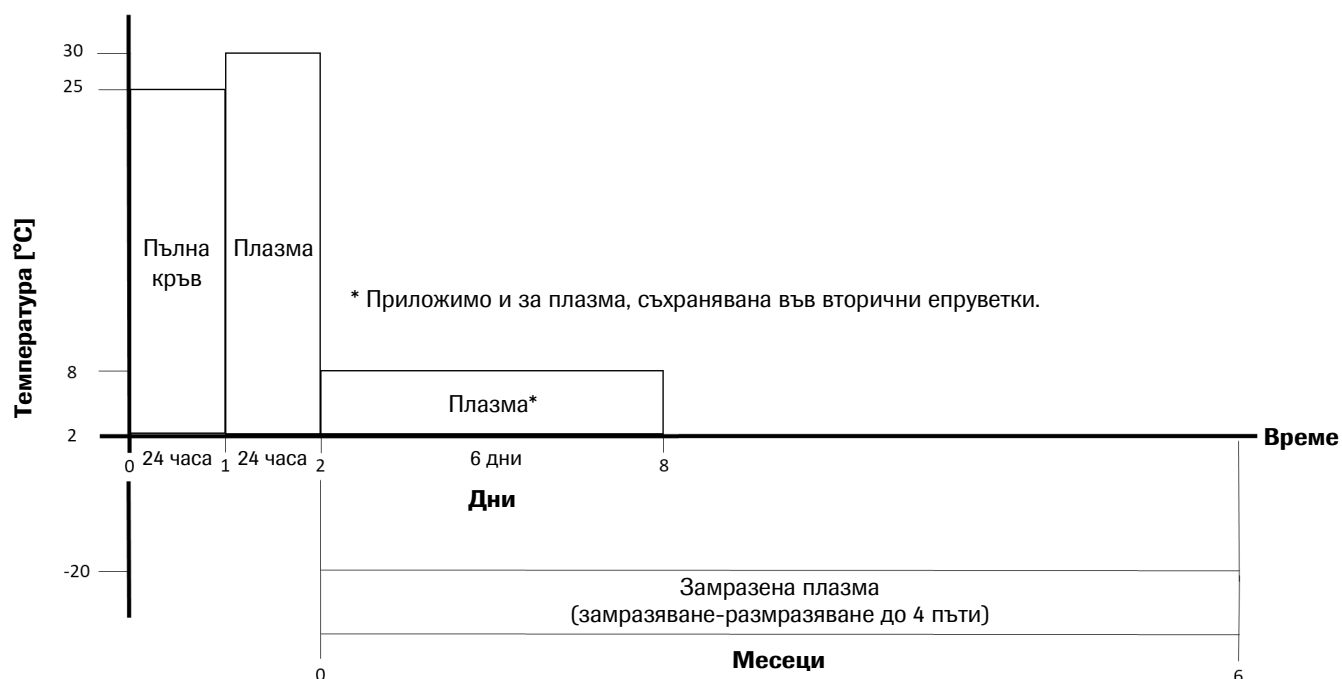
Забележка: работете с всички проби и контроли като с потенциално способни да предават инфекциозни агенти.

Проби от EDTA плазма

- Съхранявайте всички проби при указаните температури. Стабилността на пробите се влияе от повишаването на температурата.
- Ако използвате замразени проби във вторични епруветки, оставете пробите на стайна температура (15–30°C) до пълно размразяване и след това разбъркайте за кратко (например вортексирайте за 3–5 секунди) и центрофугирайте, за да съберете целия обем на пробата на дъното на епруветката.
- Пълната кръв трябва да се събира в епруветки за приготвяне на плазма **BD Vacutainer® PPT™** за молекулярни диагностични тестови методи или в стерилни епруветки, използващи EDTA като антикоагулант. Спазвайте указанията на производителя на епруветките за събиране на проби. Вижте Фигура 1.
- Пълната кръв, събрана в епруветки за приготвяне на плазма **BD Vacutainer® PPT™** за молекулярни диагностични тестови методи или в стерилни епруветки, използващи EDTA като антикоагулант, може да се съхранява и/или транспортира до 24 часа при 2–25°C преди приготвянето на плазмата. Центрофугирането трябва да се извършва съгласно инструкциите на производителя.
- След разделяне пробите от плазма могат да се съхраняват за 24 часа при 2–30°C в първични или вторични епруветки, последвано от:
 - Съхранение в първични или вторични епруветки до 6 дни при 2–8°C.
 - Съхранение във вторични епруветки до 6 месеца при температура ≤ –20°C.

- Пробите от плазма са стабилни за до четири цикъла на замразяване/размразяване, когато са замразени при $\leq -20^{\circ}\text{C}$.
- Ако пробите трябва да бъдат експедирани, те трябва да се опаковат и етикетират в съответствие с действащите държавни и/или международни нормативни документи, уреждащи транспортирането на проби и етиологични агенти.

Фигура 1 Условия за съхранение на проби от EDTA плазма

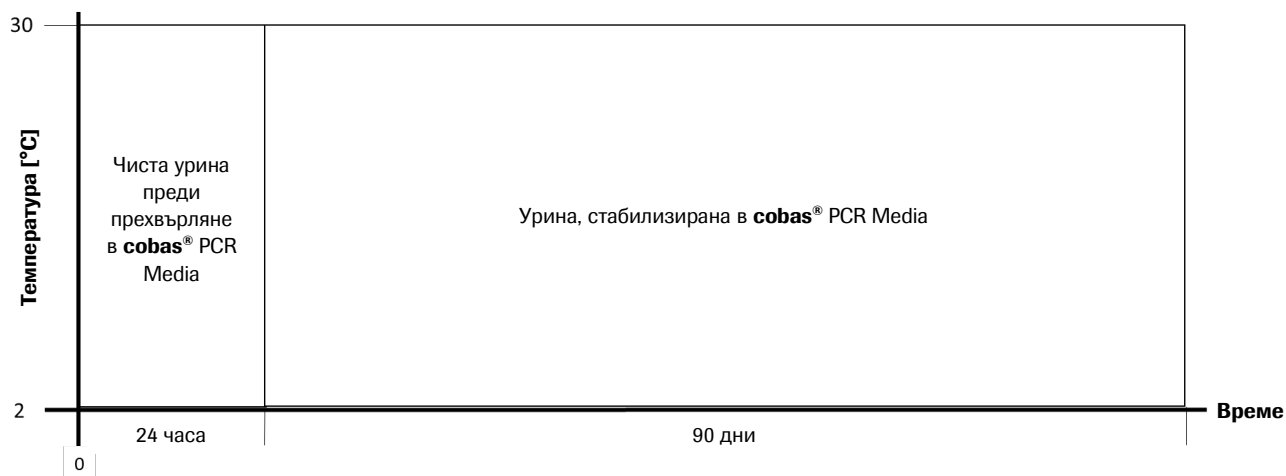


Проби от урина

- Използвайте само комплекта за проби от урина **cobas® PCR Urine Sample Kit** за вземане и стабилизиране на проби от урина за **cobas® BKV**. **cobas® BKV** не е валидиран за употреба с други средства за вземане на урина или видове среда. Използването на **cobas® BKV** с други средства за вземане на урина или други видове среда може да доведе до фалшиво отрицателни, фалшиво положителни и/или невалидни резултати.
- Пробите от урина трябва незабавно да бъдат прехвърлени в епруветката **cobas® PCR Media** (стабилизирана). Ако пробите не могат да бъдат прехвърлени веднага, те могат да се съхраняват при 2°C до 30°C до 24 часа.
След като пробите от урина се стабилизират в **cobas® PCR Media**, те могат да се съхраняват до 90 дни при $2-30^{\circ}\text{C}$.
Вижте Фигура 2.
- При нетествани проби от урина нивото на течността трябва да попада между двете черни линии в прозорчето на етикета на епруветката с **cobas® PCR Media**. Ако нивото на течността е над или под тези линии, пробата не е била взета правилно и не може да се използва за тестване.
- Ако няма достатъчно обем урина (4,3 ml) за разреждане в епруветката за проба от урина **cobas® PCR Urine Sample Tube**, урината може да се разрежи ръчно с **cobas® PCR Media**. Преди тестване с **cobas® BKV**, най-малко 0,5 ml чиста урина трябва да се разрежи ръчно в **cobas® PCR Media** (съотношение 1:1).

- За да се избегне кръстосано замърсяване на обработените проби, трябва да се използват допълнителни капачки за епруветки **cobas® PCR Media** в алтернативен цвят (неутрален; вижте **Необходими допълнителни материали**) за повторно затваряне на пробите след тестване.
- Ако е необходимо допълнително тестване, уверете се, че в епруетката **cobas® PCR Media** има останали най-малко 1,2 ml от пробата.
- Ако пробите трябва да бъдат експедирани, те трябва да се опаковат и етикетират в съответствие с действащите държавни и/или международни нормативни документи, уреждащи транспортирането на проби и етиологични агенти.

Фигура 2 Условия за съхранение на проби от урина



Инструкции за употреба

Бележки по процедурата

- Не използвайте реактиви **cobas® BКV**, **cobas® EBV/BКV Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit** или реактиви **cobas® omni** след изтичане на срока им на годност.
- Не използвайте повторно консумативи. Те са предназначени само за еднократна употреба.
- **cobas® BКV** може да се използва с минимален необходим обем на пробата от 350 µl за EDTA плазма (за тестовата процедура 200 µl) и 550 µl за стабилизирани проби от урина (за тестовата процедура 400 µl).
- Пробите трябва да бъдат отворени и заредени директно върху поставки за обработка в системата **cobas® 5800**.
- В една обработка може да има комбинация от проби (плазма, стабилизирана урина).

Обработка на **cobas® BКV** на системи **cobas® 5800/6800/8800**

- Работата на апаратите е описана подробно в Съдействие за потребителя на система **cobas® 5800** или системи **cobas® 6800/8800**.
- За правилна поддръжка на апаратите вижте Съдействие за потребителя за система **cobas® 5800** или системите **cobas® 6800/8800**.
- Пробите от EDTA плазма и стабилизирана урина трябва да се обработват чрез избор на тип проба от потребителския интерфейс (UI) на **cobas® BКV**, както е описано в Фигура 3, стъпка 2, и описано в Фигура 4, стъпка 1.
- Уверете се, че етикетите с баркода на пробите върху епруветките за проби се виждат през отворите отстрани на поставките за проби RD5 или MPA. Направете справка със Съдействие за потребителя на система **cobas® 5800** или системи **cobas® 6800/8800** относно правилните спецификации на баркодовете и за допълнителна информация относно зареждането на епруветки с проби.

Фигура 3 Процедура за тестване с **cobas®** BKV на система **cobas®** 5800

1	Впишете се в системата Натиснете „Start“ (Старт), за да подготвите системата
2	Заредете проби в системата: • Заредете поставките за проби в системата • Системата се подготвя автоматично • Поръчайте тестовете ○ Изберете „Plasma“ (Плазма) за поръчка на проби от EDTA плазма ○ Изберете „Urine“ (Урина) за поръчка на проби от урина, взети в cobas® PCR Media ▪ Отворете епруветката ▪ Поставете епруветката директно в поставката
3	Напълнете реактивите и консумативите при подканване от системата: • Заредете касетите със специфични за теста реактиви • Заредете мини поставките за контроли • Заредете накрайници за обработка • Заредете накрайници за елуиране • Заредете плаки за обработка • Заредете поставки за течни отпадъци • Заредете плаки за амплификация • Заредете касета за MGP • Напълнете разредител за проби • Напълнете с лизиращ реактив • Напълнете с реактив за измиване
4	Стартирайте обработката, като изберете бутона „Start processing“ (Стартиране на обработката) на потребителския интерфейс; всички следващи обработки ще стартират автоматично, ако не бъдат отложени ръчно
5	Прегледайте и експортирайте резултатите
6	Отстранете и запушете всички епруветки за проби, отговарящи на изискванията за минимален обем, ако това е необходимо за бъдеща употреба Почистете апарата: • Извадете празните мини поставки за контроли • Извадете празните касети със специфични за теста реактиви • Изпразнете чекмеджето за плаки за амплификация • Изхвърлете течните отпадъци • Изхвърлете твърдите отпадъци

Фигура 4 Процедура за тестване с **cobas®** BKV на система **cobas®** 6800/8800

1	Впишете се в системата Натиснете „Start“ (Старт), за да подготвите системата Поръчайте тестовете: • Изберете „Plasma“ (Плазма) за поръчка на проби от EDTA плазма • Изберете „Urine“ (Урина) за поръчка на проби от урина, взети в cobas® PCR Media
2	Напълнете реактивите и консумативите при подканване от системата: • Заредете касета със специфични за теста реактиви • Заредете касети за контроли • Заредете накрайници на пипети • Заредете плаки за обработка • Заредете реактиви за MGP • Заредете плаки за амплификация • Напълнете разредител за проби • Напълнете с лизиращ реактив • Напълнете с реактив за измиване
3	Заредете пробите в системата: • За първични проби от урина, взети в cobas® PCR Media ○ Отворете епруветката ○ Поставете епруветката директно в поставката • Заредете поставката с проби и поставките за накрайници със съсиреци в модула за подаване на проби • Потвърдете, че пробите са приети в подаващия модул
4	Стартирайте обработката, като изберете бутона за ръчно стартиране „Start manually“ на потребителския интерфейс или я оставете да стартира автоматично след 120 минути или ако партидата е пълна
5	Прегледайте и експортирайте резултатите
6	Отстранете и запушете всички епруветки за проби, отговарящи на изискванията за минимален обем, ако това е необходимо за бъдеща употреба Почистете апарата: • Извадете празните касети с контроли. • Изпразнете чекмеджето за плаки за амплификация • Изхвърлете течните отпадъци • Изхвърлете твърдите отпадъци

Резултати

Системите **cobas**® 5800/6800/8800 автоматично определят концентрацията на ДНК на BКV за пробите и контролите. Концентрацията на ДНК на BКV е изразена в международни единици на милилитър (IU/ml).

Контрол на качеството и валидност на резултатите на система **cobas**® 5800 и системи **cobas**® 6800/8800 с версия на софтуера 2.0 или по-висока

- Една **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] и две **cobas**® EBV/BKV Positive Controls, ниска положителна контрола [EBV/BKV L (+) C] и висока положителна контрола [EBV/BKV H (+) C] се обработват най-малко на всеки 72 часа и с всяка нова партида комплекти. Положителните и/или отрицателните контроли могат да се планират по-често въз основа на лабораторните процедури и/или местни разпоредби.
- Резултатите от контролите са показани в приложението „Controls“ (Контроли).
- В софтуера и/или отчета проверете за флагове, за да се уверите във валидността на резултатите от съответния тест (вижте Съдействие за потребителя на x800 Data Manager за „Списък с кодовете на флагове“).
- Контролите са маркирани като „Valid“ (Валидни) в колоната „Control result“ (Контролни резултати), ако съответната цел на контролата е отчетена като валидна. Контролите са маркирани като „Invalid“ (Невалидни) в колоната „Control result“ (Контролни резултати), ако съответната цел на контролата е отчетена като невалидна.
- За контролите, маркирани като „Invalid“, в колоната „Flags“ (Флагове) се извежда флаг. Повече информация за това защо контролата е докладвана като невалидна, включително информация за флага, се показва в подробния изглед
- Ако една от контролите е невалидна, е необходимо повторно тестване на всички контроли и всички свързани проби.

Валидирането на резултатите се извършва автоматично от софтуера на апарата въз основа на контролните резултати.

ЗАБЕЛЕЖКА: Системата **cobas**® 5800 и системите **cobas**® 6800/8800 с версия на софтуера 2.0 или по-висока ще бъдат доставени със стандартната настройка за обработка на набор от контроли (положителни и отрицателни) при всяка обработка, но може да бъдат конфигурирани за по-рядък график до на всеки 72 часа въз основа на лабораторни процедури и/или местни разпоредби. Моля, свържете се със сервизния инженер и/или отдела за техническа поддръжка на клиенти на Roche за повече информация.

Контрол на качеството и валидност на резултатите при системи cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 1.4

- С всяка партида се обработват една cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] и две cobas® EBV/BKV Positive Controls, ниска положителна контрола [EBV/BKV L (+) C] и висока положителна контрола [EBV/BKV H (+) C].
- В софтуера и/или отчета проверете за флагове и свързаните с тях резултати, за да гарантирате валидността на партидата.
- Всички флагове са описани в Съдействие за потребителя на системите cobas® 6800/8800.
- Партидата е валидна, ако няма флагове за никоя от контролите. Ако партидата е невалидна, е необходимо да тествате повторно цялата партида.

Валидирането на резултатите се извършва автоматично от софтуера на апарата въз основа на контролните резултати.

Флагове на контролите на системите cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 1.4

За да е валидна партидата, проверете всяка отделна проба за флагове в софтуера и/или отчетите на системите cobas® 5800 и cobas® 6800/8800. Интерпретацията на резултатите трябва да бъде както следва:

- Една валидна партида може да включва както валидни, така и невалидни резултати за проби

Таблица 14 Флагове на контролите за отрицателни и положителни контроли

Отрицателна контрола	Флаг	Резултат	Интерпретация
(-) Ctrl	Q02 (Неуспешна партида контроли)	Invalid	Невалиден резултат или резултатът на изчисления титър за отрицателната контрола не е отрицателен.
Положителна контрола	Флаг	Резултат	Интерпретация
EBV/BKV L (+) C	Q02 (Неуспешна партида контроли)	Invalid	Невалидният резултат или резултатът за изчисления титър за ниската положителна контрола не е в рамките на зададения диапазон.
EBV/BKV H (+) C	Q02 (Неуспешна партида контроли)	Invalid	Невалидният резултат или резултатът за изчисления титър за високата положителна контрола не е в рамките на зададения диапазон.

Интерпретация на резултатите за системи cobas® 5800/6800/8800

За да е валидна партидата, проверете всяка отделна проба за флагове в софтуера и/или отчетите на системите cobas® 5800 и cobas® 6800/8800. Интерпретацията на резултатите трябва да бъде както следва:

- Една валидна партида може да включва както валидни, така и невалидни резултати за проби.

Таблица 15 Целеви резултати за индивидуална интерпретация на целеви резултати

Резултати	Интерпретация
Target Not Detected	Не е открита ДНК на BKV. Докладвайте резултатите като „BKV не е открит“.
< Titer Min ^a	Изчисленият титър е под долната граница на количественото определяне (LLoQ) на анализа. Докладвайте резултатите като „Открит е BKV, по-малко от (Минимален титър)“. Минимален титър в EDTA плазма = 21,5 IU/ml Минимален титър в урина = 200 IU/ml
Титър	Изчисленият титър е в рамките на линейния диапазон на анализа — по-голям или равен на минималния титър и по-малък или равен на максималния титър. Докладвайте резултатите като „Открит е (титър) на BKV“.
> Titer Max ^b	Изчисленият титър е под горната граница на количественото определяне (ULoQ) на анализа. Докладвайте резултатите като „Открит е BKV, повече от (максимален титър)“. Максимален титър за EDTA плазма и урина = 1,0E+08 IU/ml

^a Резултат от пробата „< Titer Min“ (Открита цел < LLoQ) трябва да се интерпретира в контекста на другите клинични данни и не трябва да бъдат единствената основа за решения за лечение.

^b Резултат от пробата „> Titer Max“ се отнася до открити BKV положителни проби с титри над горната граница на количествено определяне (ULoQ). Ако се търси количествен резултат за проби от EDTA плазма, първоначалната проба трябва да се разрежи с BKV-отрицателна човешка EDTA плазма и да се тества повторно. Умножете докладвания резултат по коефициента на разреждане.

Интерпретация на резултатите на система cobas® 5800 и cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 2.0 или по-висока

Резултатите от пробите са показани в приложението „Results“ (Резултати) на софтуера.

За да е валидна партидата контроли, проверете всяка отделна проба за флагове в софтуера и/или отчета.

Интерпретацията на резултатите трябва да бъде както следва:

- Пробите, свързани с валидна партида контроли, се показват като „Valid“ (Валидни) в колоната „Control result“ (Контролни резултати), ако съответните целеви резултати за контролите са отчетени като валидни. Пробите, свързани с неуспешна партида контроли, се показват като „Invalid“ (Невалидни) в колоната „Control result“ (Контролни резултати), ако съответните целеви резултати за контролите са отчетени като невалидни.
- Ако свързаните контроли на резултата от пробата са невалидни, към резултата от пробата ще бъде добавен специфичен флаг, както следва:
 - Q05D: неуспешно валидиране на резултата поради невалидна положителна контрола
 - Q06D: неуспешно валидиране на резултата поради невалидна отрицателна контрола
- Стойностите в колоната „Results“ (Резултати) за индивидуален целеви резултат от пробата трябва да се интерпретират, както е показано в Таблица 15 по-горе.

- Ако една или повече цели на пробата са маркирани с „Invalid“ (Невалидни), софтуерът показва флаг в колоната „Flags“ (Флагове). Повече информация за това защо целите на пробата са докладвани като невалидни, включително информация за флага, се показва в подробния изглед.

Интерпретация на резултатите на системи cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 1.4

За да е валидна партидата, проверете всяка отделна проба за флагове в софтуера и/или отчета. Интерпретацията на резултатите трябва да бъде както следва:

- Пробите са маркирани с „Yes“ (Да) в колоната „Valid“ (Валидна), ако всички заявени целеви резултати отчитат валидни резултати. Пробите, маркирани с „No“ (Не) в колоната „Valid“, може да изискват допълнителна интерпретация и действие.
- Стойностите за индивидуален целеви резултат от пробата трябва да се интерпретират, както е показано в Таблица 15 по-горе.

Ограничения на процедурата

- cobas® BKV е оценен само за употреба в комбинация с cobas® EBV/BKV Control Kit, cobas® Buffer Negative Control Kit, cobas® omni MGP Reagent, cobas® omni Lysis Reagent, cobas® omni Specimen Diluent и cobas® omni Wash Reagent за употреба на системи cobas® 5800/6800/8800.
- Надеждните резултати зависят от правилното вземане, съхранение и обработка на пробите.
- Този тест е валидиран само за употреба с EDTA плазма и стабилизирана урина. Тестването на други видове проби с cobas® BKV може да доведе до неточни резултати. Измерванията на нивото на ДНК в плазма и стабилизирана урина не са пряко сравними помежду си и с тези на други видове проби.
- Количественото определяне на ДНК на BKV може да бъде повлияно от методите за вземане на проби, фактори, свързани с пациента (т.е. възраст, наличие на симптоми) и/или стадия на инфекция.
- Разграждането на ДНК на BKV в чиста урина може да повлияе на количественото определяне.¹⁷ Прехвърлянето на урина в cobas® PCR Media е необходимо за постигане на стабилност на пробата.
- Количествена вариабилност на ДНК на BKV, присъща на урината, е наблюдавана в експерименти за стабилност на пробата при различни времеви точки за вземане на проба (чиста урина) или в различни аликвоти на една и съща проба (чиста урина и урина, стабилизирана в cobas® PCR Media).
- Предвид тези ограничения, резултатите за ДНК на BKV в урината трябва да се тълкуват с повишено внимание в контекста на клиничните и други лабораторни находки и не трябва да бъдат единствената основа за решения за лечение.
- Урината може да съдържа високи нива на ДНК на BKV, с риск от пренасяне на замърсяване.¹⁸
- Както при всеки молекулярен тест, мутациите в рамките на целевите региони на cobas® BKV могат да повлияят на свързването на праймер и/или сонда, което води до недостатъчно количествено определяне на вируса или неуспешно откриване на наличието на вирус.
- Поради системните различия между технологиите, преди преминаване от една технология към друга на потребителите се препоръчва да провеждат в своите лаборатории корелационни проучвания на методите за установяване на технологичните различия. Потребителите трябва да следват своите специфични политики/процедури.
- cobas® BKV не е предназначен за употреба като скринингов тест за наличие на BKV в кръв или кръвни продукти.

Оценка на неклиничните характеристики

Еквивалентност на системите

Еквивалентността на системите **cobas® 5800**, **cobas® 6800** и **cobas® 8800** беше доказана чрез проучвания на действието. Резултатите, представени в инструкциите за употреба, подкрепят еквивалентното действие за всички системи.

Основни характеристики за тип проби от EDTA плазма

Международен стандарт на C3O за граница на откриване (LoD)

Границата на откриване на **cobas® BKV** за 1-ви Международен стандарт на C3O се определя чрез анализ на серийни разреждания на 1-ви Международен стандарт на C3O за BKV, получен от NIBSC (NIBSC 14/212), в BKV-отрицателна човешка EDTA плазма. Групи с шест нива на концентрация плюс празна проба бяха тествани върху три партиди реактиви **cobas® BKV**, множество обработки, дни, оператори и апарати.

Резултатите за EDTA плазма са представени в Таблица 16 до Таблица 18. Проучването показва, че при най-малко чувствителната партида, концентрацията, за която се очаква 95% степен на съвпадение чрез PROBIT, е 21,5 IU/ml с 95% доверителен интервал от 16,3 до 32,4 IU/ml в EDTA плазма. Най-ниската концентрация със степен на съвпадение $\geq 95\%$ е 19,0 IU/ml в EDTA плазма.

Таблица 16 Граница на откриване в EDTA плазма, партида 1

Входна концентрация на титъра (ДНК на BKV, IU/ml)	Брой валидни повторения	Брой положителни	Степен на съвпадение в %
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 чрез PROBIT при 95% степен на съвпадение	21,5 IU/ml 95% доверителен интервал: 16,3–32,4 IU/ml		

Таблица 17 Граница на откриване в EDTA плазма, партида 2

Входна концентрация на титъра (ДНК на BVK, IU/ml)	Брой валидни повторения	Брой положителни	Степен на съвпадение в %
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 чрез PROBIT при 95% степен на съвпадение	19,7 IU/ml 95% доверителен интервал: 15,0–29,2 IU/ml		

Таблица 18 Граница на откриване в EDTA плазма, партида 3

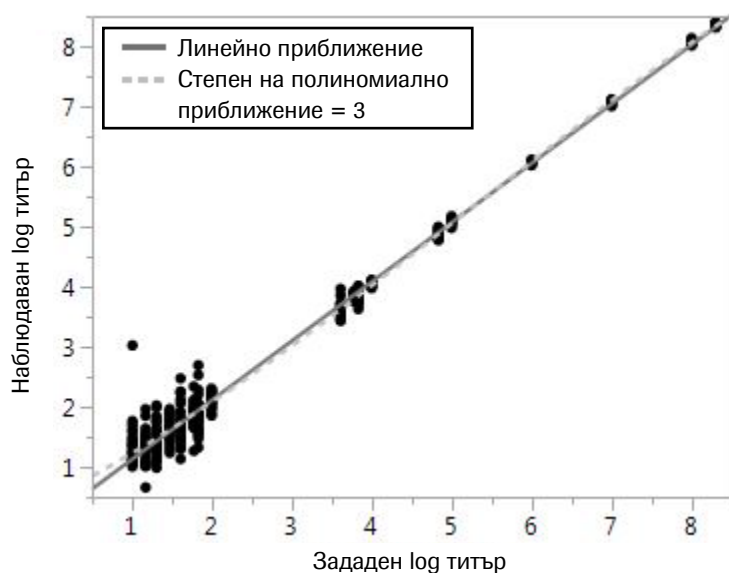
Входна концентрация на титъра (ДНК на BVK, IU/ml)	Брой валидни повторения	Брой положителни	Степен на съвпадение в %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	50	79,4
4,75	63	35	55,6
2,38	63	22	35,0
0	63	0	0,0
LoD чрез PROBIT при 95% степен на съвпадение	19,3 IU/ml 95% доверителен интервал: 14,8–28,5 IU/ml		

Линеен диапазон

Линейността на cobas® BVK беше оценена с помощта на серии на разреждане, състоящи се от 18 члена на групата с ДНК на BVK от подгрупа Ib, обхващаща линеен диапазон на анализа. За приготвяне на 11 члена на групата, обхващащи целия линеен диапазон, беше използвана ламбда ДНК с висок титър. За приготвяне на седем члена на групата, покриващи междинните и долните нива на линейния диапазон, беше използвана клинична проба.

Всеки член на групата беше тестван в 36 повторения в три партии реактиви cobas® BVK и резултатите от изследването са представени в Фигура 5.

Беше доказано, че cobas® BVK е линеен от $1,01\text{E}+01$ до $1,97\text{E}+08$ IU/ml и показва абсолютно отклонение от по-добре съответстващата нелинейна регресия по-малко или равно на $\pm 0,1 \log_{10}$ в човешка EDTA плазма (вижте Фигура 5). В рамките на линейния диапазон точността на теста е до $\pm 0,2 \log_{10}$.

Фигура 5 Определяне на линейния диапазон в EDTA плазма

Точност — в рамките на лабораторията

Точността на **cobas® BКV** се определя чрез анализ на серийни разреждания на ДНК на BКV с висок титър (подгрупа Ib) в BКV-отрицателна EDTA плазма. Пет нива на разреждане бяха тествани в 72 повторения за всяко ниво в три партии реактиви **cobas® BКV** с четири апарата и двама оператори в продължение на 12 дни. Всяка проба премина през цялата процедура на **cobas® BКV** на напълно автоматизирани системи **cobas® 6800/8800**. Следователно докладваните тук данни за прецизността представят всички аспекти на тестовата процедура. Резултатите са представени в Таблица 19.

cobas® BКV показва висока прецизност на измерване при три партии реактиви, тествани в диапазон на концентрация от 9,83E+01 IU/ml до 9,83E+05 IU/ml.

Таблица 19 Прецизност в рамките на лабораторията на **cobas® BКV***

Номинална концентрация [IU/ml]	Зададена концентрация [IU/ml]	Плазма с EDTA			
		Партида 1	Партида 2	Партида 3	Всички партии
		CO	CO	CO	Сборно SD
1,00E+06	9,83E+05	0,02	0,02	0,04	0,03
1,00E+05	9,83E+04	0,03	0,04	0,04	0,04
1,00E+04	9,83E+03	0,04	0,05	0,03	0,04
6,00E+03	5,90E+03	0,03	0,05	0,03	0,04
1,00E+02	9,83E+01	0,09	0,11	0,11	0,11

* Приема се, че данните за титъра са log-нормално разпределени и са анализирани според трансформацията на $\log_{10}$. Колоните за стандартни отклонения (SD) представят общия логаритмично преобразуван титър за всяка от трите партии реактиви.

Потвърждаване на подтипа

Действието на **cobas® BKV** върху подтипове I (с подгрупи Ia и Ic), II, III и IV на BKV беше оценено от:

- Проверка на границата на откриване
- Проверка на линейния диапазон

Проверка на границата на откриване за подтипове I (с подгрупи Ia и Ic), II, III и IV

ДНК на BKV за петте различни подтипа/подгрупи (Ia, Ic, II, III и IV) се разрежда до три различни нива на концентрация в BKV-отрицателна EDTA плазма. Определянето на степента на съвпадение беше извършено с 63 повторения за всяко ниво. Тестването беше проведено с три партии реактиви **cobas® BKV**, множество обработки, дни, оператори и апарати. Резултатите потвърждават, че **cobas® BKV** е открил ДНК на BKV за пет различни подтипа/подгрупи при концентрации от 21,5 IU/ml със степен на съвпадение от $\geq 95\%$.

Проверка на линейния диапазон за подтипове I (с подгрупи Ia и Ic), II, III и IV

Сериите на разреждане, използвани при проверката на изследването на линейността на подтиповете/подгрупите на **cobas® BKV**, се състои от осем члена на групата, обхващащи линейния диапазон на анализа. Тестването беше проведено с три партии реактив **cobas® BKV**, в EDTA плазма бяха тествани 12 повторения на ниво.

Линейният диапазон на **cobas® BKV** беше потвърден за всичките пет подтипа/подгрупи (Ia, Ic, II, III и IV).

Специфичност

Специфичността на **cobas® BKV** се определя чрез анализиране на BKV-отрицателни проби от EDTA плазма от отделни донори. 104 отделни проби от EDTA плазма бяха тествани с три партии реактиви **cobas® BKV**. Всички тествани проби са отрицателни за ДНК на BKV. В тестовата група специфичността на **cobas® BKV** беше 100% (едностранен долен 95% доверителен интервал: 97,16%).

Аналитична специфичност

Аналитичната специфичност на **cobas® BKV** беше оценена чрез тестване на група от микроорганизми при концентрация от 1,00E+06 единици/ml (CFU/ml, клетки/ml, CCU/ml, IFU/ml) за бактерии и дрожди и между 1,00E+05 единици/ml и 1,00E+06 единици/ml (копия/ml, TCID₅₀/ml, IU/ml, клетки/ml) за вируси.

Микроорганизмите се разреждат в отрицателна на ДНК на BKV човешка EDTA плазма, както и човешка EDTA плазма, съдържаща (100 IU/ml) ДНК на BKV. Конкретните тествани организми са изброени в Таблица 20. Всяка проба беше тествана в три повторения. Нито един от патогените, различни от BKV, не е повлиял на ефективността на теста при тестваните концентрации. С **cobas® BKV** бяха получени отрицателни резултати за всички проби от микроорганизми без BKV цел и положителни резултати за всички проби от микроорганизми с BKV цел. Освен това, средният log₁₀ титър на всяка от положителните BKV проби, съдържаща потенциално кръстосано реагиращи организми, е в рамките на $\pm 0,5$ log₁₀ от средния log₁₀ титър на съответната положителна контрола с обогатяване.

Таблица 20 Микроорганизми, тествани за кръстосана реактивност

Вируси	Бактерии	Дрожди
Аденовирус тип 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Цитомегаловирус	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Вирус на Epstein-Barr	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Вирус на хепатит В	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Вирус на хепатит С	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Херпес симплекс вирус, тип 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Херпес симплекс вирус, тип 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Човешки херпес вирус тип 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Човешки херпес вирус тип 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Човешки херпес вирус тип 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Човешки имунодефицитен вирус 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Човешки имунодефицитен вирус 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Човешки папиломавирус	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
JS вирус	<i>Salmonella enterica</i>	-
Парвовирус B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Маймунски вирус 40	-	-
Варицела-зостер вирус	-	-

Аналитична специфичност — интерфериращи вещества

Повишени нива на триглицериди (33 g/l), конюгиран билирубин (0,2 g/l), неконюгиран билирубин (0,2 g/l), албумин (60 g/l), хемоглобин (2 g/l) и човешка ДНК (2 mg/l) в проби са тествани в присъствието (100 IU/ml) и отсъствието на ДНК на BVK. Доказано е, че тестваните ендогенни интерференции не пречат на изпълнението на теста **cobas® BVK**.

В допълнение, лекарствените съединения, изброени в Таблица 21, са тествани при три пъти C_{max} при наличието и отсъствието на ДНК на BVK.

Доказано е, че всички потенциално интерфериращи вещества не пречат на изпълнението на теста. С **cobas® BVK** бяха получени отрицателни резултати за всички проби без BVK цел и положителни резултати за всички проби от с BVK цел. Освен това, средният $\log_{10}$ титър на всяка от положителните BVK проби, съдържаща потенциално интерфериращи вещества, е в рамките на $\pm 0,5 \log_{10}$ от средния $\log_{10}$ титър на съответната положителна контрола с обогатяване.

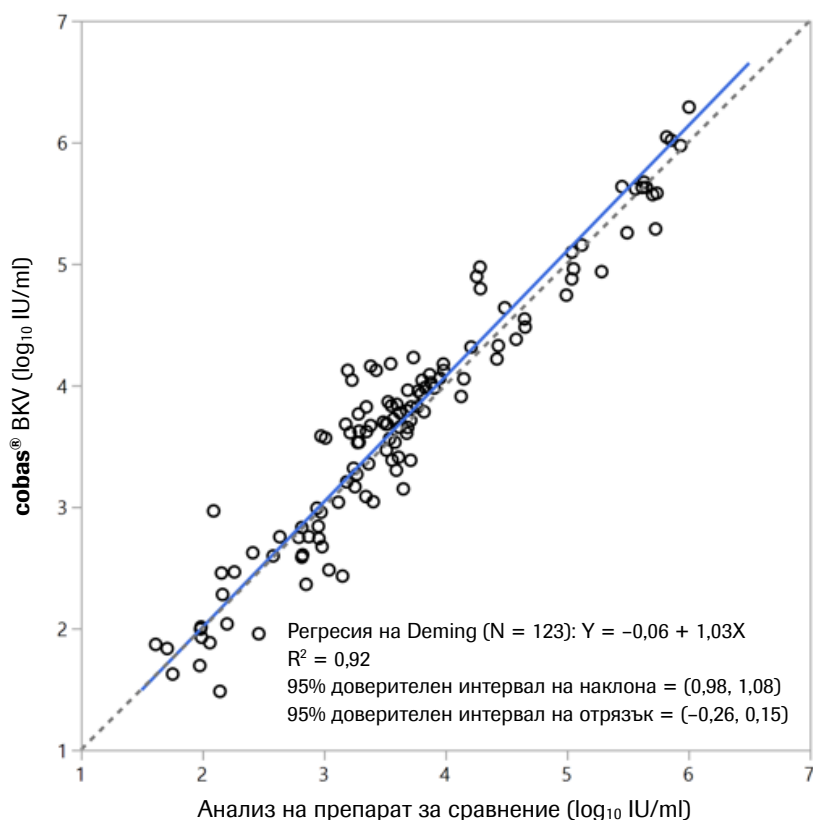
Таблица 21 Лекарствени съединения, тествани за интерференция при количествено определяне на ДНК на BVK с **cobas® BVK**

Клас лекарства	Име на генеричното лекарство	
Антимикробни	Цефотетан	Сулфаметоксазол
	Калиев клавуланат	Динатриев тикарцилин
	Флуконазол	Триметоприм
	Пиперацилин	Ванкомицин
	Тазобактам натрий	Микафунгин
Съединения за лечение на херпесни вируси	Ганцикловир	Цидофовир
	Валганцикловир	Форскарнет
	Ацикловир	Летермовир
Имуносупресор	Азатиоприн	Преднизон
	Циклоспорин	Сиролимус
	Еверолимус	Такролимус
	Микофенолат мофетил	Микофенолова киселина

Корелация на метода

Действието на **cobas® BVK** беше оценено чрез сравнителен анализ чрез анализиране на проби от EDTA плазма от BVK-инфектирани пациенти. Пробите от EDTA плазма, в рамките на количествения диапазон на двата теста, бяха тествани като единични повторения. Извършен беше регресионен анализ на Deming.

Резултатите от регресионния анализ на Deming са представени в Фигура 6.

Фигура 6 Регресионен анализ на cobas® BKV спрямо анализ на препарат за сравнение

Нефункциониране на цялата система

Степента на нефункциониране на цялата система за cobas® BKV беше определена чрез тестване на 100 повторения на EDTA плазма с добавена BKV положителна клинична проба. Тези проби бяха тествани при концентрация от $3 \times \text{LoD}$.

Резултатите от това проучване установиха, че всички повторения са валидни и положителни за целта на BKV, което води до степен на нефункциониране на цялата система 0% (едностранен горен 95% доверителен интервал 2,95%).

Кръстосано замърсяване

Степента на кръстосано замърсяване за cobas® BKV беше определена чрез тестване на 240 повторения на BKV-отрицателна матрична проба и 225 повторения на проба с висок титър на ДНК на BKV при приблизително $2,00\text{E}+07 \text{ IU/ml}$. Общо бяха извършени пет обработки с положителни и отрицателни проби в шахматна конфигурация.

Всички 240 повторения на отрицателната проба бяха отрицателни, което води до степен на кръстосано замърсяване от 0% (едностранен горен 95% доверителен интервал 1,24%).

Основни характеристики за тип проби от урина

Международен стандарт на C3O за граница на откриване (LoD)

Границата на откриване на cobas® BKV за международния стандарт на C3O се определя чрез анализ на серийни разреждания на 1-ви международен стандарт за BKV на C3O, получен от NIBSC (NIBSC 14/212), в BKV-отрицателна сборна урина, стабилизирана в cobas® PCR Media. Групи с шест нива на концентрация плюс празна проба бяха тествани върху три партии реактиви cobas® BKV, множество обработки, дни, оператори и апарати.

Резултатите за сборна урина, стабилизирана в cobas® PCR Media, са показани в Таблица 22 до Таблица 24.

Проучването показва, че при най-малко чувствителната партида, концентрацията, за която се очаква 95% степен на съвпадение чрез PROBIT, е 12,2 IU/ml с 95% доверителен интервал от 9,2 до 18,3 IU/ml в чиста урина. Най-ниската концентрация със степен на съвпадение $\geq 95\%$ е 10,0 IU/ml в чиста урина.

Таблица 22 Граница на откриване в урина, партида 1

Входна концентрация на титъра (ДНК на BKV, IU/ml)*	Брой валидни повторения	Брой положителни	Степен на съвпадение в %
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 чрез PROBIT при 95% степен на съвпадение	12,2 IU/ml 95% доверителен интервал: 9,2–18,3 IU/ml		

* Тестваните проби от урина са стабилизирани в cobas® PCR Media. Входна концентрация на титъра, използвана за изчисляване въз основа на чиста урина.

Таблица 23 Граница на откриване в урина, партида 2

Входна концентрация на титъра (ДНК на BKV, IU/ml)*	Брой валидни повторения	Брой положителни	Степен на съвпадение в %
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 чрез PROBIT при 95% степен на съвпадение	11,9 IU/ml 95% доверителен интервал: 9,2–17,3 IU/ml		

* Тестваните проби от урина са стабилизирани в cobas® PCR Media. Входна концентрация на титъра, използвана за изчисляване въз основа на чиста урина.

Таблица 24 Граница на откриване в урина, партида 3

Входна концентрация на титъра (ДНК на BVK, IU/ml)*	Брой валидни повторения	Брой положителни	Степен на съвпадение в %
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 чрез PROBIT при 95% степен на съвпадение	10,1 IU/ml 95% доверителен интервал: 7,8–14,7 IU/ml		

* Тестваните проби от урина са стабилизирани в cobas® PCR Media. Входна концентрация на титъра, използвана за изчисляване въз основа на чиста урина.

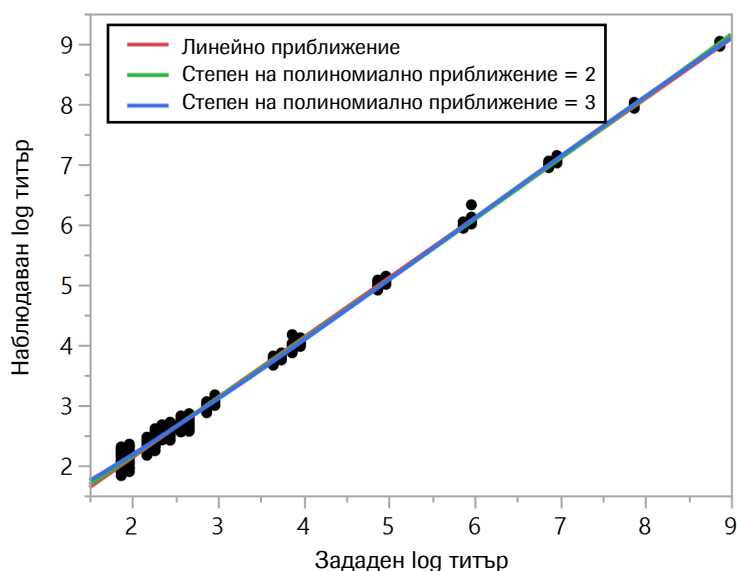
Линеен диапазон

Линейността на cobas® BVK беше оценена с помощта на серии на разреждане, състоящи се от 10 члена на групата, като се използва клинична проба (BVK подгрупа Ib), обхващаща линейния диапазон на анализа. За приготвяне на 12 члена на групата, обхващащи целия линеен диапазон, беше използвана ламбда ДНК с висок титър.

Всеки член на групата беше тестван в 36 повторения в три партии реактиви cobas® BVK и резултатите от изследването са представени в Фигура 7.

Беше доказано, че cobas® BVK е линеен от $7,41\text{E}+01$ IU/ml до $7,41\text{E}+08$ IU/ml и показва абсолютно отклонение от по-добре съответстващата нелинейна регресия, по-малко или равно на $\pm 0,1 \log_{10}$, в сборна урина, стабилизирана в cobas® PCR Media (вижте Фигура 7). В рамките на линейния диапазон точността на теста е до $\pm 0,2 \log_{10}$.

Фигура 7 Определяне на линейния диапазон в урина



Точност — в рамките на лабораторията

Точността на cobas® BKV се определя чрез анализ на серийни разреждания на ДНК на BKV с висок титър (подгрупа Ib) в BKV-отрицателна сборна урина, стабилизирана в cobas® PCR Media. Пет нива на разреждане бяха тествани в 72 повторения за всяко ниво в три партии реактиви cobas® BKV с два апарата и двама оператори в продължение на 12 дни. Всяка проба премина през цялата процедура на cobas® BKV на напълно автоматизирани системи cobas® 6800/8800. Следователно докладваните тук данни за прецизността представят всички аспекти на тестовата процедура. Резултатите са представени в Таблица 25.

cobas® BKV показва висока прецизност на измерване при три партии реактиви, тествани в диапазон на концентрация от 7,41E+02 IU/ml до 7,41E+05 IU/ml.

Таблица 25 Прецизност в рамките на лабораторията на cobas® BKV*

Номинална концентрация [IU/ml]	Зададена концентрация [IU/ml]	Урина, стабилизирана в cobas® PCR Media			
		Партида 1	Партида 2	Партида 3	Всички партии
		CO	CO	CO	Сборно SD
1,00E+06	7,41E+05	0,02	0,02	0,02	0,02
1,00E+05	7,41E+04	0,02	0,03	0,02	0,03
1,00E+04	7,41E+03	0,03	0,03	0,03	0,03
6,00E+03	4,44E+03	0,04	0,03	0,04	0,03
1,00E+03	7,41E+02	0,05	0,05	0,04	0,05

* Приема се, че данните за титъра са log-нормално разпределени и са анализирани според трансформацията на log₁₀. Колоните за стандартни отклонения (SD) представят общия логаритмично преобразуван титър за всяка от трите партии реактиви.

Потвърждаване на подтипа

Действието на cobas® BKV върху подтипове I (с подгрупи Ia и Ic), II, III и IV на BKV беше оценено от:

- Проверка на границата на откриване
- Проверка на линейния диапазон

Проверка на границата на откриване за подтипове I (с подгрупи Ia и Ic), II, III и IV

ДНК на BKV за петте различни подтипа/подгрупи (Ia, Ic, II, III и IV) се разрежда до три различни нива на концентрация в BKV-отрицателна сборна урина, стабилизирана в cobas® PCR Media. Определянето на степента на съвпадение беше извършено с 63 повторения за всяко ниво. Тестването беше проведено с три партии реактиви cobas® BKV, множество обработки, дни, оператори и апарати. Резултатите потвърждават, че cobas® BKV е открил ДНК на BKV за пет различни подтипа/подгрупи при концентрации от 12,2 IU/ml със степен на съвпадение от ≥ 95%.

Проверка на линейния диапазон за подтипове I (с подгрупи Ia и Ic), II, III и IV

Сериите на разреждане, използвани при проверката на изследването на линейността на подтиповете/подгрупите на cobas® BKV, се състои от осем члена на групата, обхващащи линейния диапазон на анализа. Тестването беше проведено с три партии реактив cobas® BKV, в урина, стабилизирана в cobas® PCR Media, бяха тествани 12 повторения на ниво.

Линейният диапазон на cobas® BKV беше потвърден за всичките пет подтипа/подгрупи (Ia, Ic, II, III и IV).

Специфичност

Специфичността на cobas® BKV беше определена чрез анализиране на BKV-отрицателни проби от урина, стабилизирани в cobas® PCR Media, от отделни донори. Сто отделни проби от урина бяха тествани с три партии реактиви cobas® BKV. Всички тествани проби са отрицателни за ДНК на BKV. В тестовата група специфичността на cobas® BKV беше 100% (едностранен долен 95% доверителен интервал: 97,05%).

Аналитична специфичност

Аналитичната специфичност на cobas® BKV беше оценена чрез тестване на група от микроорганизми при концентрация между 1,00E+06 единици/ml и 2,00E+06 единици/ml (CFU/ml, клетки/ml, CCU/ml, IFU/ml) за бактерии и дрожди и между 1,00E+05 единици/ml (копия/ml, TCID₅₀/ml, IU/ml, клетки/ml) за вируси. Микроорганизмите се разреждат в отрицателна на ДНК на BKV урина, както и урина, съдържаща (600 IU/ml) ДНК на BKV. Конкретните тествани организми са изброени в Таблица 26. Всяка проба беше тествана в три повторения. Нито един от патогените, различни от BKV, не е повлиял на ефективността на теста при тестваните концентрации. С cobas® BKV бяха получени отрицателни резултати за всички проби от микроорганизми без BKV цел и положителни резултати за всички проби от микроорганизми с BKV цел. Освен това, средният log₁₀ титър на всяка от положителните BKV проби, съдържаща потенциално кръстосано реагиращи организми, е в рамките на ±0,5 log₁₀ от средния log₁₀ титър на съответната положителна контрола с обогатяване.

Таблица 26 Микроорганизми, тествани за кръстосана реактивност

Вируси	Бактерии	Бактерии	Дрожди
Херпес симплекс вирус 2	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Човешки папиломавирус 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>	-	-

Аналитична специфичност — интерфериращи вещества

Повишени нива на албумин (0,5% w/v), конюгиран билирубин (1% w/v), глюкоза (1% w/v), моонуклеарни клетки на периферната кръв (1,00E+06 клетки/ml), слуз (в присъствието на 1 тампон със слуз на 4,3 ml проба), киселинно рН (рН 4), алкално рН (рН 9), сперма (1 тампон, потопен в сперма на 4,3 ml от пробата), натрий (300 mEq/l) и пълна кръв (10% v/v) в пробите бяха тествани в присъствието (600 IU/ml) и отсъствието на ДНК на BVK. Доказано е, че тестваните ендогенни интерференции не пречат на изпълнението на теста **cobas® BVK**.

В допълнение, лекарствените съединения, изброени в Таблица 27, са тествани при наличието и отсъствието на ДНК на BVK.

Доказано е, че всички потенциално интерфериращи вещества, с изключение на пудра от талк, не пречат на изпълнението на теста. Пудра от талк при $\leq 0,05\%$ не показва интерференция с **cobas® BVK**. С **cobas® BVK** бяха получени отрицателни резултати за всички проби без BVK цел и положителни резултати за всички проби от с BVK цел. Освен това, средният $\log_{10}$ титър на всяка от положителните BVK проби, съдържаща потенциално интерфериращи вещества, е в рамките на $\pm 0,5 \log_{10}$ от средния $\log_{10}$ титър на съответната положителна контрола с обогатяване.

Таблица 27 Лекарствени съединения, тествани за интерференция при количествено определяне на ДНК на BКV с cobas® BКV

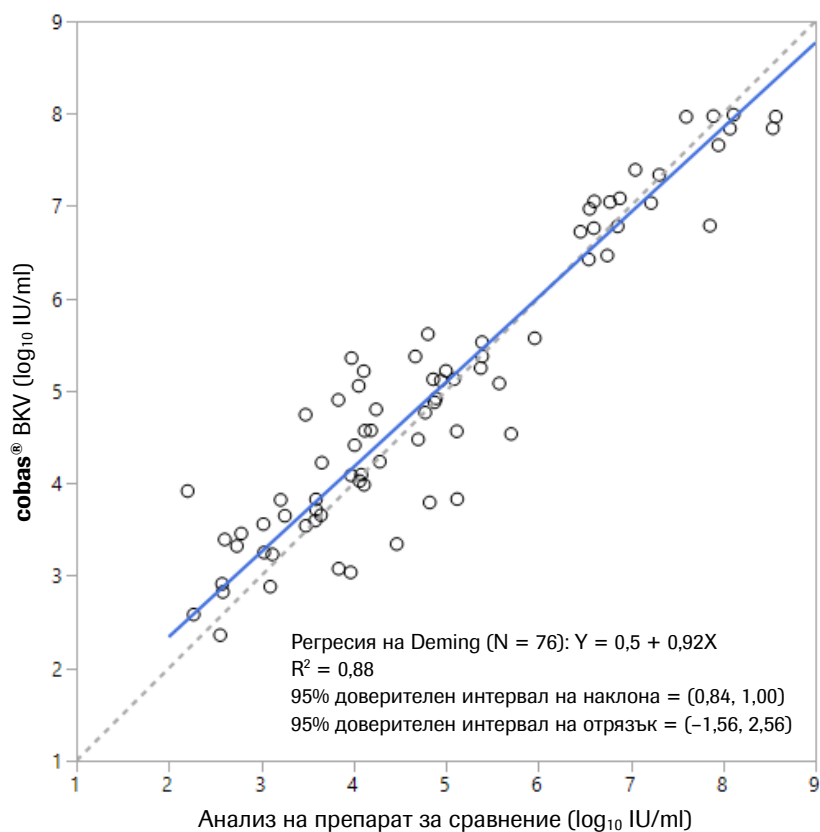
Клас лекарства	Активна съставка	Концентрация	Име на генеричното лекарство
Антимикробни	Clotrimazole	100 µg/ml	Gyne-Lotrimin 7
	Metronidazole	701 µmol/l	Arilin rapid Вагинални супозитории Vagi Metro крем Nidazea гел
Естрогенен стероиден хормон	Estradiol	4,41 nmol/l	Estrace
Аналгетици	Феназопиридин хидрохлорид	200 µg/ml	Azo Standard
	Ацетаминофен	1324 µmol/l	Ацетаминофен
Лубрикант	Пропиленгликол	1000 µg/ml	K-Y UltraGel
Нестероидно противовъзпалително лекарство	Ацетилсалицилова киселина	3,62 mmol/l	Ацетилсалицилова киселина
	Naproxen	2170 µmol/l	Naproxen
	Ibuprofen	2425 µmol/l	Ibuprofen
Не е приложимо	Талк	0,05% (w/v)	Пудра от талк

Корелация на метода

Действието на cobas® BKV беше оценено чрез сравнителен анализ чрез анализиране на проби от урина от BKV-инфектирани пациенти. Пробите от урина, в рамките на количествения диапазон на двата теста, бяха тествани като единични повторения. Извършен беше регресионен анализ на Deming.

Резултатите от регресионния анализ на Deming са представени в Фигура 8.

Фигура 8 Регресионен анализ на cobas® BKV спрямо анализ на препарат за сравнение



Кръстосано замърсяване

Степента на кръстосано замърсяване за cobas® BKV беше определена чрез тестване на 240 повторения на BKV-отрицателна матрична проба и 225 повторения на проба с висок титър на ДНК на BKV при приблизително 1.00×10^9 IU/ml. Общо бяха извършени пет обработки с положителни и отрицателни проби в шахматна конфигурация.

Всички 240 повторения на отрицателната проба бяха отрицателни, което води до степен на кръстосано замърсяване от 0,0% (едностранен горен 95% доверителен интервал 1,24%).

Оценка на клиничните характеристики

Възпроизводимост на cobas® BVK за проба от EDTA плазма

Възпроизводимостта на cobas® BVK беше оценена при различни фактори (партида реактиви, център за тестване, партида и дни на тестване), които биха могли да повлияят на докладваните резултати при рутинно клинично тестване. Оценката е проведена в 3 центъра за тестване, с 3 партии реактиви, на група положителни и отрицателни проби с общо 270 теста на концентрация (без контролите). Групите бяха направени от EDTA плазма, която беше отрицателна за BVK VCA IgG и бяха тествани за BVK с протокол за освобождаване NAT в плазма и бяха обогатени с международен стандарт за BVK на СЗО или култивирана вирусна ДНК на BVK генотип Ib (най-често срещаният генотип). Двама оператори във всеки център тестваха всяка партида реактиви в продължение на 5 дни. Всеки ден се извършваха две обработки (1 обработка = 1 партида; 1 партида = 1 група + 3 контроли) и 3 повторения на всеки член на групата за всяка обработка. Резултатите от оценката са обобщени в Таблица 28.

Таблица 28 Процент на общата дисперсия (%TV), стандартно отклонение на общата прецизност (SD) и логнормален CV (%) на концентрацията на ДНК на BVK ($\log_{10}$ IU/ml) от положителен член на групата

Очаквана концентрация на ДНК на BVK ($\log_{10}$ IU/ml)	Наблюдавана средна ^a концентрация на ДНК на BVK ($\log_{10}$ IU/ml)	Брой тестове ^b	Партида %TV ^c (CV%) ^г	Център %TV ^c (CV%) ^г	Ден/Оператор %TV ^c (CV%) ^г	Партида %TV ^c (CV%) ^г	В рамките на партида %TV ^c (CV%) ^г	Обща прецизност SD ^e	Обща прецизност, логнормален (CV%) ^г
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 Изчислено с помощта на процедура SAS MIXED.

^b Брой валидни тестове с откриваемо ниво на ДНК.

^c %TV = Процент принос към общата дисперсия.

^г CV% = Логнормален процентен коефициент на вариация = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e Изчислено, като се използва общата вариативност от процедурата SAS MIXED.

Забележка: таблицата включва само резултати с откриваемо ниво на ДНК. SD = стандартно отклонение; CV = коефициент на вариация; BVK = BK вирус

cobas® BVK показва приемлива клинична възпроизводимост при концентрации в целия линеен диапазон.

В допълнение, системата откри 100% от $3 \times \text{LLoQ}$ проби. Системите cobas® 6800 и cobas® 8800 имат общ модул дизайн и показва еквивалентност при използване на cobas® BVK. Всички изчислени 95% доверителни граници (CLs) за разликата между 2 измервания от един и същи субект бяха в рамките на $\pm 0,84 \log_{10}$ IU/ml, което показва, че анализът може да оцени промени в нивата на ДНК на BVK, които се смятат за клинично значими.

От 270 валидни теста за отрицателните членове на групата, извършени на системите cobas® 6800/8800, всички проби показаха резултат „Target Not Detected“ (Цел не е открита), поради което процентът на съответствие на отрицателните резултати (NPA) беше 100% с 95% точен ДИ от 98,6% до 100%.

Действие на cobas® BKV за проба от EDTA плазма

Клиничното действие на cobas® BKV беше допълнително оценено в три центъра за тестване чрез измерване на нивата на ДНК на BКV в клинични проби (чисти и разредени) на инфектирани с BКV и неинфектирани пациенти и сурогатни проби от EDTA плазма, обогатени с култивиран BКV вирус, в сравнение с утвърден лабораторно разработен тест за нуклеинова киселина (LDT) (сравнителен LDT за BКV). От всички проби, тествани с cobas® BKV и сравнителния тест за BКV, имаше общо 550 проби (217 чисти и 303 разредени клинични проби от 129 трансплантирани субекта и 30 сурогатни проби), които бяха валидни и за двата анализа и подлежащи на оценка за клиничния анализ за съвпадение (Таблица 29).

Таблица 29 Анализ за съвпадение между cobas® BKV и сравнителния LDT на резултатите за ниво на ДНК на BКV за всички проби

cobas® BKV (log ₁₀ IU/ml)	Сравнителен LDT за BКV (log ₁₀ IU/ml) Target Not Detected (Цел не е открита)	Сравнителен LDT за BКV (log ₁₀ IU/ml) < LLoQ (< 2,3)	Сравнителен LDT за BКV (log ₁₀ IU/ml) 2,3 до < 3,0	Сравнителен LDT за BКV (log ₁₀ IU/ml) 3,0 до < 3,7	Сравнителен LDT за BКV (log ₁₀ IU/ml) 3,7 до 4,4	Сравнителен LDT за BКV (log ₁₀ IU/ml) > 4,4	Общ брой
Target Not Detected (Цел не е открита)	107	7	5	0	0	0	119
< LLoQ (< 2,3)	23	51	39	0	0	0	113
2,3 до < 3,0	0	3	40	62	1	0	106
3,0 до < 3,7	0	0	1	71	42	0	114
3,7 до 4,4	0	0	0	0	26	26	52
> 4,4	0	0	0	0	1	45	46
Общ брой	130	61	85	133	70	71	550
Процент на съответствие за колоната (%)	(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% ДИ на резултата) ^a	(97,1%, 100%)	(94,1%, 100,0%)	(87,0%, 97,5%)	(97,2%, 100,0%)	(92,3%, 99,7%)	(94,9%, 100,0%)	-

Забележка: ДИ = доверителен интервал; LLoQ = долна граница на количествено определяне на сравнителен LDT за BКV (200 IU/ml = 2,3 log₁₀ IU/ml). Стандартно отклонение на сравнителния LDT за BКV, оценено на 0,37 log₁₀ IU/ml (от аналитично прецизно изследване на LDT на BКV на университет Индиана). Концентрацията на анализа от 3,0 log₁₀ IU/ml представлява LLoQ + 2σ; 3,7 log₁₀ IU/ml представлява LLoQ + 4σ и 4,4 log₁₀ IU/ml представлява LLoQ + 6σ с интервал от 2σ. В тази таблица са включени двоедни проби, подлежащи за оценка за клиничен анализ за съвпадение.

^a Предполага се независимост между всички проби.

Като несъответстващи резултати се определят тези, които са на повече от едно поле от диагонала (обозначени със затъмняване). Като „Target Not Detected“ (TND) (Цел не е открита) в полето „Процент на съответствие за колоната“ за LDT бяха комбинирани клетките „Target Not Detected“ и „< LLoQ (< 2,3)“ за cobas® BКV. Обосновката за комбинирането на съседните клетки < LLoQ и TND е, че разликата между TND и < LLoQ не е клинично значима и че те са аналитично в долния край на диапазона на измерване, което може да бъде повлияно от случайна грешка.

От 43 отрицателни проби за ДНК на BКV, взети за оценка на NPA с cobas® BКV, всички 43 проби бяха отрицателни чрез cobas® BКV, следователно NPA е 100% с 95% точен ДИ от 91,8% до 100%.

Съвпадението между cobas® BКV и сравнителния LDT за BКV беше оценено и с помощта на различни клинични прагове (Таблица 30).

Таблица 30 Обобщение на съпадението на cobas® BКV и сравнителен LDT за BКV с различни прагове за всички проби

Прагове*	Процент на съответствие < праг 95% ДИ (n/N)	Процент на съответствие ≥ праг 95% ДИ (n/N)
Target Not Detected (Цел не е открита)	82,3% (107/130) (74,8%, 87,9%)	97,1% (408/420) (95,1%, 98,4%)
LLoQ (2,3 log ₁₀ IU/ml)	98,4% (188/191) (95,5%, 99,5%)	87,7% (315/359) (83,9%, 90,7%)
3,0 log ₁₀ IU/ml	99,6% (275/276) (98,0%, 99,9%)	77,0% (211/274) (71,7%, 81,6%)
4,0 log ₁₀ IU/ml	100,0% (447/447) (99,1%, 100,0%)	67,0% (69/103) (57,4%, 75,3%)

Забележка: Пробите с резултати Target Not Detected (Цел не е открита) бяха категоризирани като < прагова стойност в IU/ml.

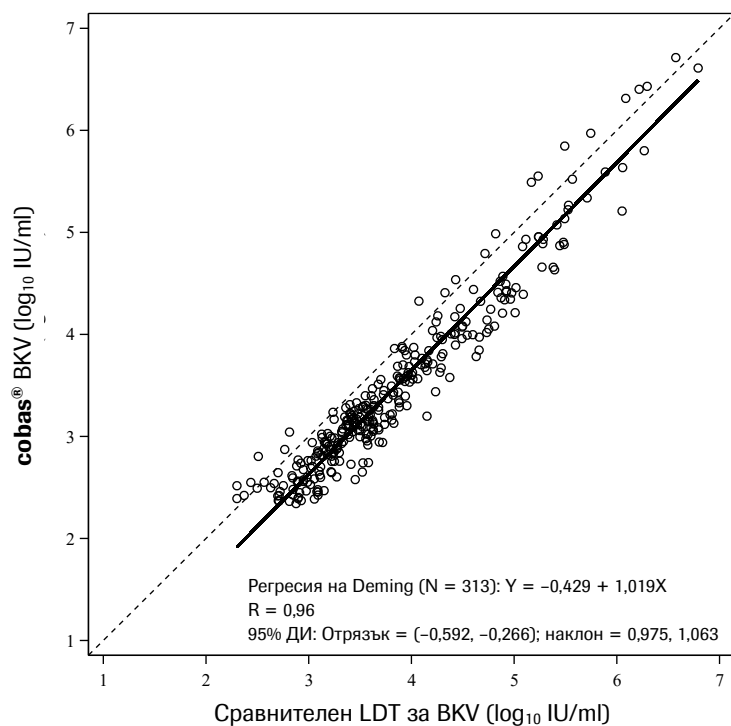
LLoQ = долна граница на количествено определяне на сравнителен LDT за BКV (200 IU/ml = 2,3 log₁₀ IU/ml).

95% доверителен интервал (ДИ), изчислен чрез метод за сумарна оценка, предполагащ независимост между всички проби.

* Прагове от 1000 IU/ml = 3,0 log₁₀ IU/ml и 10 000 IU/ml = 4,0 log₁₀ IU/ml.

От всички проби, тествани с cobas® BКV, които бяха BКV положителни със сравнителния тест за BКV, имаше общо 313 (133 чисти и 159 разредени клинични проби от 68 трансплантирани субекта и 21 сурогатни проби), които подлежаха на оценка за корелационния анализ в трите центъра за тестване (Фигура 9).

Фигура 9 Корелация между **cobas® BKV** и сравнителен LDT за BKV за всички проби: графика на линейна регресия на Deming на нивата на ДНК ($\log_{10}$ IU/ml)



Допълнителен анализ на графика на отклонение на разликите в нивата на ДНК показва систематична разлика между двата анализа, която е постоянна в припокриващия се линеен диапазон. 95-процентният доверителен интервал на отрязъка на съпадащата линия в графиките на отклонение е от -0.404 до -0.168 , което е в рамките на $\pm 0.74 \log_{10}$ IU/ml (± 2 пъти стандартното отклонение на аналитичната точност на сравнителния LDT за BKV). Освен това, средното отклонение беше оценено на $-0.357 \log_{10}$ IU/ml и с помощта на уравнението на съпадащата линия в графиките на отклонение систематичната разлика между двата анализа беше съответно $-0.343 \log_{10}$ IU/ml и $-0.362 \log_{10}$ IU/ml за проби с нива на ДНК при 3 и 4 $\log_{10}$ IU/ml.

Възпроизводимост на **cobas® BKV** за проба от стабилизирана урина

Възпроизводимостта на **cobas® BKV** беше оценена при различни фактори (партида реактиви, център за тестване, партида и дни на тестване), които биха могли да повлияят на докладваните резултати при рутинно клинично тестване. Оценката е проведена в 3 центъра за тестване, с 3 партиди реактиви, на група положителни и отрицателни проби с общо 270 теста на концентрация (без контролите). Групите бяха изготвени от урина, стабилизирана с **cobas® PCR Media**, за която беше потвърдено, че е отрицателна за ДНК на BKV с помощта на протокол за освобождаване на нуклеинова киселина в урината (NAT) и обогатена с международен стандарт за BKV на СЗО или култивирана вирусна ДНК на BKV генотип Ia. Двама оператори във всеки център тестваха всяка партида реактиви в продължение на 5 дни. Всеки ден се извършваха две обработки (1 обработка = 1 партида; 1 партида = 1 група + 3 контроли) и 3 повторения на всеки член на групата за всяка обработка. Резултатите от оценката са обобщени в Таблица 31.

Таблица 31 Процент на общата дисперсия (%TV), стандартно отклонение на общата прецизност (SD) и логнормален CV (%) на концентрацията на ДНК на BКV ($\log_{10}$ IU/ml) от положителен член на групата (стабилизирана урина)

Очаквана концентрация на ДНК на BКV	Наблюдавана средна ^a концентрация на ДНК на BКV	Брой тестове ^b	Партида %TV ^c (CV%) ^r	Център %TV ^c (CV%) ^r	Ден/Оператор %TV ^c (CV%) ^r	Партида %TV ^c (CV%) ^r	В рамките на партида %TV ^c (CV%) ^r	Обща прецизност SD ^e	Обща прецизност (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

Забележка: таблицата включва само резултати с откриваемо ниво на ДНК. SD = стандартно отклонение; CV = коефициент на вариация; BКV = BК вирус.

^a Изчислено с помощта на процедура SAS MIXED.

^b Брой валидни тестове с откриваемо ниво на ДНК.

^c %TV = Процент принос към общата дисперсия.

^r CV% = Логнормален процентен коефициент на вариация = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^d Изчислено, като се използва общата вариативност от процедурата SAS MIXED.

cobas® BКV показва приемлива клинична възпроизводимост при концентрации в целия линеен диапазон.

В допълнение, системата откри 100% от $3 \times \text{LLoQ}$ проби. Системите **cobas® 6800** и **cobas® 8800** имат общ модул дизайн и показаха еквивалентност при използване на **cobas® BКV**. Всички изчислени 95% доверителни граници (CLs) за разликата между 2 измервания от един и същи субект бяха в рамките на $\pm 0,20 \log_{10}$ IU/ml, което показва, че анализът може да оцени промени в нивата на ДНК на BКV, които се смятат за клинично значими. Системата показва 99,26% съответствие на отрицателните резултати с ДИ от 97,3% до 99,9%. От 270 валидни теста за отрицателните членове на групата, 2 проби (0,74%) показаха ниво на ДНК < LLoQ положителност. По-нататъшното изследване на тези резултати показва, че те не са свързани с конкретен апарат/център или партида реактиви. Допълнителното ДНК секвениране потвърждава наличието на BКV. Идентифицираните BКV последователности са различни от тези на положителната контрола и BКV щама, използван за приготвяне на групата, с изключение на замърсяването по време на приготвяне на групата и предполагащи следи от вирурия в една от 25-те проби от урина от сборната проба от урина, която е била използвана за приготвяне на отрицателната група.

Действие на cobas® BKV за проба от стабилизирана урина

Клиничното действие на cobas® BKV беше допълнително оценено в три центъра за тестване чрез измерване на нивата на ДНК на BKV в клинични проби от урина на инфектирани с BKV и неинфектирани пациенти, които са били стабилизирани в cobas® PCR Media, в сравнение с утвърден LDT (сравнителен LDT за BKV).

От всички проби, тествани с cobas® BKV и сравнителния тест за BKV, имаше общо 308 проби от чиста урина, стабилизирана в cobas® PCR Media от 84 трансплантирани субекта, които бяха валидни и при двата анализа и подлежащи на оценка за клиничния анализ за съвпадение (Таблица 32).

Таблица 32 Анализ за съвпадение между cobas® BKV и сравнителния LDT на резултатите за ниво на ДНК на BKV ($\log_{10}$ IU/ml) за всички проби (стабилизирана урина)

cobas® BKV ($\log_{10}$ IU/ml)	Сравнителен LDT за BKV Target Not Detected (Цел не е открита)	Сравнителен LDT за BKV < LLoQ (<3,0)	Сравнителен LDT за BKV 3,0 до < 3,3	Сравнителен LDT за BKV 3,3 до < 3,6	Сравнителен LDT за BKV 3,6 до 3,9	Сравнителен LDT за BKV > 3,9	Общ брой
Target Not Detected (Цел не е открита)	62	6	0	0	0	0	68
< LLoQ (<3,0)	4	22	0	0	0	1	27
3,0 до < 3,3	0	2	0	0	0	0	2
3,3 до < 3,6	0	0	6	3	0	0	9
3,6 до 3,9	0	0	2	11	10	0	23
> 3,9	0	0	0	2	8	169	179
Общ брой	66	30	8	16	18	170	308
Процент на съответствие за колоната (%)	(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% ДИ на резултата) ^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%)	-

Забележка: ДИ = доверителен интервал; LLoQ = долна граница на количествено определяне на сравнителен LDT за BKV ($1000 \text{ IU/ml} = 3,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$); LDT = лабораторно разработен тест; BKV = BK вирус.

Стандартно отклонение на сравнителния LDT за BKV, оценено на $0,15 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (проучване за валидиране на сравнителен LDT за BKV).

Концентрацията на анализа от $3,3 \log_{10} \text{ IU/ml}$ представлява $\text{LLoQ} + 2\sigma$; $3,6 \log_{10} \text{ IU/ml}$ представлява $\text{LLoQ} + 4\sigma$ и $3,9 \log_{10} \text{ IU/ml}$ представлява $\text{LLoQ} + 6\sigma$ с интервал от 2σ .

В тази таблица са включени сдвоени проби, подлежащи за оценка за клиничен анализ за съвпадение.

^a Предполага се независимост между всички проби.

Секвенирането на ДНК върху представителни проби от субекти с резултати с постоянно отклонение на ниво на ДНК с повече от $1 \log_{10}$ IU/ml, не разкрива никакви несъответствия в секвенциите за никой праймер или цели на сонда за cobas® BКV. Като несъответстващи резултати се определят тези, които са на повече от едно поле от диагонала (обозначени със затъмняване). Като „Target Not Detected“ (TND) (Цел не е открита) в полето „Процент на съответствие за колоната“ за LDT бяха комбинирани клетките „Target Not Detected“ и „< LLoQ (< 3,0)“ за cobas® BКV. Обосновката за комбинирането на съседните клетки < LLoQ и TND е, че разликата между TND и < LLoQ не е клинично значима и че те са аналитично в долния край на диапазона на измерване, което може да бъде повлияно от случайна грешка. От 66 отрицателни проби за ДНК на BКV, взети за оценка на NPA с cobas® BКV, 61 дадоха валидни резултати, всички 61 проби бяха отрицателни чрез cobas® BКV, следователно NPA е 100% с 95% точен ДИ от 94,1% до 100%.

Съвпадението между cobas® BКV и сравнителния LDT за BКV беше оценено и с помощта на различни клинични прагове (Таблица 33).

Таблица 33 Обобщение на съпадението на cobas® BКV и сравнителен LDT за BКV с различни прагове за всички проби (стабилизирана урина)

Праг*	Процент на съответствие < праг 95% ДИ (n/N)	Процент на съответствие ≥ праг 95% ДИ (n/N)
Target Not Detected (Цел не е открита)	93,9% (62/66) (85,4%, 97,6%)	97,5% (236/242) (94,7%, 98,9%)
LLoQ (3,0 $\log_{10}$ IU/ml)	97,9% (94/96) (92,7%, 99,4%)	99,5% (211/212) (97,4%, 99,9%)
4,0 $\log_{10}$ IU/ml	90,9% (130/143) (85,1%, 94,6%)	99,4% (164/165) (96,6%, 99,9%)
7,0 $\log_{10}$ IU/ml	97,2% (242/249) (94,3%, 98,6%)	94,9% (56/59) (86,1%, 98,3%)

Забележка: пробите с резултати „Target Not Detected“ (Цел не е открита) бяха категоризирани като < прагова стойност в IU/ml.

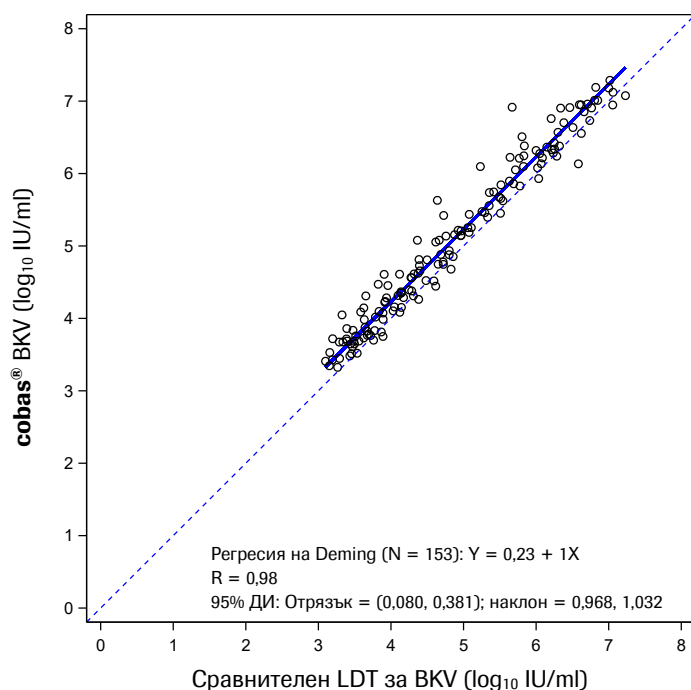
LLoQ = долна граница на количествено определяне на сравнителен LDT за BКV ($1000 \text{ IU/ml} = 3,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$).

95% доверителен интервал (ДИ), изчислен чрез метод за сумарна оценка, предполагащ независимост между всички проби.

* Прагове от $10\,000 \text{ IU/ml} = 4,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$ и $10\,000\,000 \text{ IU/ml} = 7,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$.

От всички проби, тествани с cobas® BКV, които бяха BКV положителни със сравнителния тест за BКV, имаше общо 153 проби от чиста урина, стабилизирани в cobas® PCR Media, от 55 трансплантирани субекта, които подлежах на оценка за корелационния анализ в трите центъра за тестване (Фигура 10).

Фигура 10 Корелация между cobas® BКV и сравнителен LDT за BКV за всички проби: графика на линейна регресия на Deming на нивата на ДНК ($\log_{10}$ IU/ml) (стабилизирана урина)



Допълнителен анализ на графика на отклонение на разликите в нивата на ДНК показва систематична разлика между двата анализа, която е постоянна в припокриващия се линеен диапазон. 95-процентният доверителен интервал на отрязъка на съпадащата линия в графиките на отклонение е от 0,168 до 0,488, което е в рамките на $\pm 0,5 \log_{10}$ IU/ml. Освен това, средното отклонение беше оценено на $0,231 \log_{10}$ IU/ml и с помощта на уравнението на съпадащата линия в графиките на отклонение систематичната разлика между двата анализа беше съответно $0,248 \log_{10}$ IU/ml и $0,188 \log_{10}$ IU/ml за проби с нива на ДНК при $4 \log_{10}$ IU/ml и $7 \log_{10}$ IU/ml.

Допълнителна информация

Основни характеристики на теста

Тип проба	Плазма с ЕДТА	Урина, стабилизирана в cobas® PCR Media
Минимално количество необходима проба	350 µl*	550 µl*
Обем за обработка на пробата	200 µl	400 µl
Аналитична чувствителност	21,5 IU/ml (двустранен 95% доверителен интервал: 16,3–32,4 IU/ml)	12,2 IU/ml (двустранен 95% доверителен интервал: 9,2–18,3 IU/ml)
Линеен диапазон	21,5 IU/ml до 1E+08 IU/ml	200 IU/ml до 1E+08 IU/ml
Специфичност	100%	100%
Открити подтипове	BKV подтипове I (с подгрупи Ia, Ib и Ic), II, III и IV	

* Мъртъв обем от 150 µl, идентифициран за вторичните епруветки **cobas® omni**. Други епруветки, използвани за тестване, може да имат различен мъртъв обем и да изискват по-голям или по-малък минимален обем. Свържете се с Вашия местен сервизен представител на Roche за допълнителна информация.

Символи

Върху етикетите на PCR диагностичните продукти на Roche се използват следните символи.

Таблица 34 Символи, използвани за обозначаване на PCR диагностичните продукти на Roche

Age/DOB	Възраст или дата на раждане		Изделие не е предназначено за тестване на място	QS IU/PCR	QS в IU при една PCR реакция; използвайте количеството QS в международни единици (IU) при една PCR реакция за изчисляване на резултатите.
	Спомагателен софтуер		Изделието не е предназначено за самостоятелни тестове	SN	Сериен номер
Assigned Range [copies/mL]	Зададен диапазон (копия/мл)		Дистрибутор (Забележка: Приложимата държава/регион може да бъдат посочени под символа)	Site	Център
Assigned Range [IU/mL]	Зададен диапазон (IU/мл)		Да не се използва повторно	Procedure Standard	Процедура на стандарта
EC REP	Оторизиран представител в Европейската Общност		Женски	STERILE EO	Стерилизиран с етиленов оксид
	Информационен лист с баркодовете		Само за оценка на IVD характеристиките		Да се съхранява на тъмно
LOT	Код на партидата	GTIN	Глобален номер на търговската единица		Температурна граница
	Биологичен риск		Вносител		Файл за дефиниране на теста
REF	Каталожен номер	IVD	Медицинско изделие за <i>in vitro</i> диагностика		Тази страна нагоре
	СЕ маркировка за съответствие; това изделие отговаря на приложимите изисквания за поставяне на СЕ маркировка на медицинско изделие за <i>in vitro</i> диагностика	LLR	Долна граница на зададения диапазон	Procedure UltraSensitive	Ултрачувствителна процедура
Collect Date	Дата на вземане		Мъжки	UDI	Уникален идентификатор на изделието
	Вижте инструкциите за употреба		Производител	ULR	Горна граница на зададения диапазон
	Съдържа количество, достатъчно за <L> теста	CONTROL -	Отрицателна контрола	Urine Fill Line	Линия за пълнене с урина
CONTENT	Съдържание на кита		Нестерилен	Rx Only	За САЩ: Внимание: федералното законодателство ограничава продажбата на това устройство от или по поръчка на лекар.
CONTROL	Контрола		Име на пациента		Годен до
	Дата на производство		Номер на пациента		
	Изделие за тестване на място		Отлепи тук		
	Изделието е предназначено за самостоятелни тестове	CONTROL +	Положителна контрола		
		QS copies / PCR	QS (Квантитативен стандарт) копия при една PCR реакция; използвайте количеството QS копия при една PCR реакция за изчисляване на резултатите.		

Техническа поддръжка

За техническа поддръжка (съдействие), моля, свържете се с местния филиал:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Производител и вносител

Таблица 35

Производител и вносител



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

Произведен в САЩ



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Търговски марки и патенти

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

Авторско право

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Исползвана литература

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 Preventions, 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.

Издание на документа

Информация кое преработено издание е документът	
Doc Rev. 4.0 12/2024	Добавена е информация за версия на софтуера 2.0 за системи cobas® 6800/8800. Добавен е NIBSC код: 14/212 за Международен стандарт на C3O. Актуализирано е извеждането на примерни резултати на системите cobas® 6800/8800 с версия на софтуера 1.4. Премахнати са P/N на консумативи, подробна информация за консумативите е посочена в Съдействие за потребителя на системите cobas® 5800 и cobas® 6800/8800. Премахнато е Rx Only от първата страница. Актуализирана е страницата с хармонизирани символи. Моля, свържете се с местния представител на Roche, ако имате някакви въпроси.

Резюмето на доклада за безопасността и действието е на разположение от следната връзка:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.