

cobas[®] BKV

Kvantitativt nukleinsyratest för användning på cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

För *in vitro*-diagnostisk användning

cobas[®] BKV

P/N: 09040960190

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Innehållsförteckning

Avsedd användning	5
Sammanfattning och förklaring av testet	5
Reagens och material	8
cobas® BKV-reagens och -kontroller	8
cobas omni-reagens för provberedning	11
Förvaring och hantering av reagens	12
Reagenshantering för cobas® 5800 System	13
Reagenshantering för cobas® 6800/8800 Systems	14
Extramaterial som behövs för cobas® 5800 System	15
Extramaterial som behövs för cobas® 6800/8800 Systems	16
Instrument och programvara som behövs	17
Försiktighetsåtgärder och information om hantering	18
Varningar och säkerhetsåtgärder	18
Reagenshantering	19
God laboratoriesed	19
Provtagning, transport och förvaring av prover	20
EDTA-plasmaprover	20
Urinprover	21
Bruksanvisning	22
Anmärkningar om testet	22
Köra cobas® BKV på cobas® 5800 System	22
Köra cobas® BKV på cobas® 6800/8800 Systems	24

Resultat 25

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på cobas ® 5800 System	25
Kontrollresultat på cobas ® 5800 System	25
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på cobas ® 6800/8800 Systems	25
Tolkning av resultat	26
Tolkning av resultat för cobas ® 5800 System	27
Tolkning av resultat för cobas ® 6800/8800 Systems	27
Testets begränsningar	28

Utvärdering av icke-klinisk prestanda 29

Viktiga prestandaegenskaper för EDTA-plasmaprover som körs på cobas ® 6800/8800 Systems	29
Detektionsgräns (LoD) med WHO:s internationella standard	29
Linjärt intervall.....	30
Precision – inom laboratoriet	31
Verifiering av subtyp	32
Specificitet.....	32
Analytisk specificitet.....	32
Analytisk specificitet – interfererande substanser.....	34
Metodkorrelation.....	34
Felfrekvens inom hela systemet	35
Korskontamination	35
Viktiga prestandaegenskaper för urinprovstyp på cobas ® 6800/8800 Systems.....	36
Detektionsgräns (LoD) med WHO:s internationella standard	36
Linjärt intervall.....	37
Precision – inom laboratoriet	38
Verifiering av subtyp	38

Specificitet.....	39
Analytisk specificitet.....	39
Analytisk specificitet – interfererande substanser.....	40
Metodkorrelation.....	41
Korskontamination	41
Utvärdering av klinisk prestanda på cobas® 6800/8800 Systems.....	42
Reproducerbarhet för cobas® BKV för EDTA-plasmaprover.....	42
Prestanda för cobas® BKV för EDTA-plasmaprover	43
Reproducerbarhet för cobas® BKV för stabiliserade urinprover	45
Prestanda för cobas® BKV för stabiliserade urinprover	46
Systemekvivalens/systemjämförelse	48
Ytterligare information.....	49
Viktiga testegenskaper.....	49
Symboler.....	50
Teknisk support.....	51
Tillverkare och importör	51
Varumärken och patent.....	51
Copyright.....	51
Referenser.....	52
Revidering av dokumentet	53

Avsedd användning

cobas® BKV är ett in vitro-test för nukleinsyraamplifiering för kvantifiering av BK-virus (BKV) DNA i human EDTA-plasma och urin som stabiliserats i **cobas® PCR Media**.

I EDTA-plasma är **cobas® BKV** avsett som hjälpmedel vid diagnos och hantering av BKV hos transplanterade patienter. Hos patienter som genomgår kontroll för BKV i EDTA-plasma kan seriella DNA-mätningar användas för att indikera behovet av potentiella ändringar av behandlingen och för att bedöma det virologiska svaret på behandlingen.

I urin som stabiliserats i **cobas® PCR Media** är **cobas® BKV** avsett som hjälpmedel vid diagnos och hantering av BKV hos transplanterade patienter.

Resultaten från **cobas® BKV** måste tolkas med hänsyn till alla relevanta kliniska fynd och laboratoriefynd.

cobas® BKV är inte avsett för användning som ett screeningtest för blod eller blodprodukter.

Sammanfattning och förklaring av testet

Bakgrund

Personer som mottagit transplantat har ökad risk att drabbas av ett flertal virus- och bakterieinfektioner som mycket oftare orsakar allvarliga sjukdomar hos transplanterade patienter jämfört med hos en allmän frisk population. Den ökade risken beror delvis på försämrat immunförsvar, vilket är en följd av de immunsuppressiva läkemedel som transplanterade patienter får i syfte att minska risken för avstötning.^{1,2}

BK-virus (BKV) är ett litet (~5 kb) DNA-virus utan hölje som tillhör familjen polyomavirus. Det finns fyra huvudsakliga BKV-subtyper, av vilka subtyp I är den som upptäcks oftast (80 %), följt av subtyp IV (15 %).³ BKV-seroprevalensen är > 80 % hos en allmän frisk population.⁴ Hos immunkompetenta personer är BKV inte associerat med signifikant patologi. BKV-infektion kan dock orsaka allvarlig klinisk sjukdom hos personer med nedsatt immunförsvar, till exempel transplanterade patienter.⁵

BKV-infektioner drabbar oftast njurarna och urinröret. Efter den primära infektionen stannar viruset kvar latent i det tubulära njurepitelet och i det uretära epitelet, och kan därefter reaktiveras hos personer med nedsatt immunförsvar. Njurtransplanterade patienter löper högre risk att drabbas av BKV-associerade komplikationer jämfört med mottagare av andra transplantat, till exempel polyomvirusnefropati (PVN) och uretär stenosis. PVN förekommer hos upp till 10 % av alla njurtransplanterade patienter, och ungefär 50 % av patienterna med PVN drabbas av svikt i transplantatet. Dessutom utvecklar ungefär 3 % av de njurtransplanterade patienterna BKV-associerad uretär stenosis.⁵ Patienter som mottagit hematopoetiska stamceller via transplantation (HSCT) drabbas också av BKV-associerade komplikationer oftare än andra, oftast i form av hemorragisk cystit (HC). Mellan 5 och 15 % av HSCT-patienterna drabbas av HC.¹

I riktlinjerna rekommenderas regelbunden övervakning av BKV hos njurtransplanterade patienter i upp till 5 år efter transplantationen.⁶ Med denna typ av övervakning kan 80–90 % av patienterna som riskerar att drabbas av PVN identifieras. Plasmatestning för BKV-viremi rekommenderas som en del av strategin för att identifiera patienter med ökad risk för PVN, antingen som ett bekräftelsetest för patienter hos vilka BKV-virus har påträffats i urinen, eller som den primära testmetoden för rutinmässig screening.⁶ Det finns för närvarande inga rekommendationer för rutinmässig BKV-övervakning av HSCT-patienter, och testning rekommenderas primärt för utvärdering av patienter med hematuri och kliniska symptom på cystit. En BKV DNA-nivå över 10 000 kopior/ml är dock associerad med en högre risk för HC hos transplanterade patienter.⁷

För njurtransplanterade patienter som har en bestående ökning av BKV-DNA-nivåer i plasma (vanligen definierat som en mängd över 10 000 kopior/ml) rekommenderas plasmatestning för BKV med 12 veckors mellanrum tills DNA-nivån är på en icke detekterbar nivå vid två mätningar i följd.

Många laboratorietester för BKV-kvantifiering är inte standardiserade, vilket har resulterat i variabilitet mellan laboratorier och mellan analyser.^{6,7} Dessutom kan beståndsdelar av urin orsaka BKV-aggregering, vilket också kan påverka den kvantitativa variabiliteten.^{8,9} En formell bedömning av reproducerbarheten och validiteten för BKV-DNA-nivåerna är av avgörande betydelse för att säkerställa konsekventa resultat (oavsett vilket laboratorium analysen utfördes på) för den kliniska behandlingen av patienter med BKV-relaterade sjukdomar.

Det råder fortfarande oenighet om det exakta medicinskt relevanta tröskelvärde för viruset på grund av variabilitet mellan analyser, men konceptet med kritiskt tröskelvärde verkar vara giltigt och har rapporterats i studier av naturlig historik som visade att högre BKV-DNA-nivåer korrelerar med ökad risk för att utveckla PVN och HC.^{6,7}

Princip för NAT-testning

Serologi för polyomvirus används inte rutinmässigt i kliniska miljöer, utan är endast av värde för att fastställa om en patient har varit infekterad med BKV tidigare och det finns risk för reaktivering. Metoder för virusodling kräver lång tid för resultat, och eftersom de är semikvantitativa har de begränsad nytta för patienter med nedsatt immunförsvar där det är vanligt med låga virusnivåer. Direkt detektion av BKV DNA genom realtids-PCR-metoder ger potentiellt ett brett dynamiskt intervall, precision och optimal sensitivitet och specificitet för användning med transplanterade patienter.

Förklaring av testet

cobas® BKV är ett kvantitativt test som körs på **cobas®** 5800/6800/8800 Systems. **cobas®** BKV möjliggör detektion och kvantifiering av BKV DNA i EDTA-plasma och urin som stabiliserats i **cobas®** PCR Media hos infekterade patienter. BKV DNA-nivån kvantifieras mot en icke-BKV DNA-kvantifieringsstandard (DNA-QS) som tillsätts i varje prov under provbearbetningen. DNA-QS är även avsedd för övervakning av hela provberednings- och PCR-amplifieringsprocessen. Dessutom används tre externa kontroller i testet: en positiv med hög titer, en positiv med låg titer och en negativ kontroll. De högpositiva och lågpositiva externa kontrollerna tillverkas av spädning från stammaterial med en titer som är spårbar till WHO:s internationella standard för BKV. Varje amplifierings-/detektionskit-lot är kalibrerad med spårbarhet till WHO:s internationella standard för BKV.

Användningsprinciper

cobas® BKV är baserat på helt automatisk provberedning (extraktion och rening av nukleinsyra) följt av PCR-amplifiering och detektion. **cobas®** 5800 System är utformat som ett integrerat instrument. **cobas®** 6800/8800 Systems består av en provinmatningsmodul, överföringsmodul, processmodul och analysmodul. Automatisk datahantering utförs av **cobas®** 5800- eller **cobas®** 6800/8800 System-programmet som tilldelar testresultat för alla tester enligt följande: mål inte detekterat, BKV-DNA detekterat < LLoQ (nedre kvantifieringsgräns), BKV-DNA detekterat > ULoQ (övre kvantifieringsgräns) eller ett värde i det linjära intervallet $LLoQ < x < ULoQ$. Resultaten kan visas direkt i systemfönstret, exporteras eller skrivas ut som en rapport.

Nukleinsyra från patientprover och tillsatta lambda DNA-QS-molekyler extraheras samtidigt. Sammanfattningsvis frisätts viral nukleinsyra genom tillsats av proteinas och lyseringsreagens i provet. Den frisatta nukleinsyran binder till kiselytan på de tillsatta magnetiska glaspartiklarna. Obundna substanser och föroreningar, till exempel denaturerat protein,

cellrester och potentiella PCR-hämmare tas bort med efterföljande tvättreagenssteg, och renad nukleinsyra elueras från glaspartiklarna med hjälp av elueringsbuffert vid förhöjd temperatur.

Målnukleinsyran amplifieras selektivt från provet genom att använda två målområden i maximalt konserverade regioner av BKV som finns i lilla t-antigenregionen för BKV och i BKV VP2-regionen. Selektiv amplifiering av DNA-QS uppnås genom användning av sekvensspecifika forward- och reverse-primers som väljs för att inte ha någon homologi med BKV-genomet. Ett värmebeständigt DNA-polymerasenzym används för amplifieringen. Mål- och DNA-QS-sekvenserna amplifieras samtidigt med hjälp av en universell PCR-amplifieringsprofil med fördefinierade temperatursteg och antal cykler. I master-mixen ingår deoxiuridintrifosfat (dUTP) istället för deoxitymidintrifosfat (dTTP), som inkorporerats i det nyligen syntetiserade DNA:t (amplikon).¹⁰⁻¹² Eventuella kontaminerande amplikon från tidigare PCR-körningar elimineras med hjälp av AmpErase-enzymet (ingår i PCR-mixen) under uppvärmningen i det första termocyklingssteget. Nybildade amplikon elimineras dock inte eftersom AmpErase-enzymet inaktiveras när det utsätts för temperaturer över 55 °C.

cobas® BKV-master-mixen innehåller två detektionsprober som är specifika för BKV-målsekvenser och en som är specifik för DNA-QS. Proberna är märkta med målspecifika fluorescerande reporterfluorokromer som möjliggör samtidig detektion av BKV-mål och DNA-QS i två olika kanaler.^{13, 14} Fluorescenssignalen för de intakta proberna hämmas av en quencherfluorokrom. Under PCR-amplifieringssteget hybridiserar proberna specifikt till respektive mål på det enkelsträngade DNA:t, vilket resulterar i klyvning med 5'-till-3'-nukleasaktiviteten i DNA-polymeraset, vilket i sin tur resulterar i separation av reporter- och quencherfluorokromen och gör att en fluorescenssignal genereras. För varje PCR-cykel genereras ökande mängder klyvda prober, och som en följd av detta ökar den sammanlagda signalen för reporterfluorokromen. Realtidsdetektion och urskiljning av PCR-produkter uppnås genom att mäta fluorescensen i de frisläppta reporterfluorokromerna för de virala målen och DNA-QS.

Reagens och material

cobas® BKV-reagens och -kontroller

Material som medföljer för cobas® BKV anges i Tabell 1. Material som behövs men inte medföljer anges i Tabell 2 till Tabell 4 och Tabell 8 till Tabell 10.

Riskinformationen för produkten finns i avsnittet **Reagens och material** och i avsnittet **Försiktighetsåtgärder och information om hantering**.

Tabell 1 cobas® BKV

cobas® BKV Förvaras i 2–8 °C Kassett med 192 tester (P/N 09040960190)		
Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit 192 tester
Proteinaslösning (PASE)	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % proteinas, glycerol EUH210: Säkerhetsdatablad finns att rekvirera. EUH208: Innehåller subtilisin från <i>Bacillus subtilis</i> . Kan orsaka allergisk reaktion.	22,3 ml
DNA-kvantifieringsstandard (DNA QS)	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % icke-BKV DNA-konstrukt som inte binder BKV men har en unik probbindningsregion (ej infektiöst DNA), < 0,002 % Poly rA RNA (syntetiskt), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffert (EB)	Trisbuffert, 0,2 % metyl-4 hydroxybensoat	21,2 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
BKV master mix-reagens 2 (BKV MMX-R2)	Tricinbuffert, kaliumacetat, < 18 % dimetylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % uppströms- och nedströms BKV-primers, < 0,01 % forward- och reverse-primers för kvantifieringsstandard, < 0,01 % fluorescensmärkta oligonukleotidprober specifika för BKV och BKV-kvantifieringsstandard, < 0,01 % oligonukleotid-aptamer, < 0,01 % Z05D DNA-polymeras, < 0,10 % AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) (mikrobiellt), < 0,1 % natriumazid	9,7 ml

Tabell 2 cobas® EBV/BKV Control Kit

cobas® EBV/BKV Control Kit Förvaras i 2–8 °C (P/N 09040951190)			
Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning*
EBV/BKV-lågpositiv kontroll (EBV/BKV L(+))C)	< 0,001 % syntetiskt (plasmid) BKV DNA inkapslat i Lambda-bakteriofagens skalprotein, normal human plasma, BKV DNA ej detekterbart med PCR 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 Reaktionsmassa av: 5-kloro-2-metyl-3(2H)-isotiazolon och 2-metyl-3(2H)-isotiazolon (3:1).
EBV/BKV-högpositiv kontroll (EBV/BKV H(+))C)	< 0,001 % syntetiskt (plasmid) BKV DNA inkapslat i Lambda-bakteriofagens skalprotein, normal human plasma, BKV DNA ej detekterbart med PCR 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 Reaktionsmassa av: 5-kloro-2-metyl-3(2H)-isotiazolon och 2-metyl-3(2H)-isotiazolon (3:1).

* Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

Tabell 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

cobas® Buffer Negative Control Kit Förvaras i 2–8 °C (P/N 09051953190)		
Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Trisbuffert, < 0,1 % natriumazid, EDTA, 0,002 % Poly rA-RNA (syntetiskt)	16 ml (16 × 1 ml)

cobas omni-reagens för provberedning

Tabell 4 cobas omni-reagens för provberedning

Reagens	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning*
cobas omni MGP Reagent (MGP) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiska glaspartiklar, Trisbuffert, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat, < 0,1 % natriumazid	480 tester	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997511190)	Trisbuffert, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ej tillämpligt
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997538190)	43 % (vikt/vikt) guanidintiocyanat**, 5 % (vikt/volym) polydokanol**, 2 % (vikt/volym) ditiotreitol**, natriumdivätecitrat EUH032: Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra.	4 × 875 ml	 FARA H302 + H332: Skadligt vid förtäring eller vid inandning. H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H411: Giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338 + P310: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P391: Samla upp spill. 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-ditioerytritol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Förvaras i 15–30 °C (P/N 06997503190)	Natriumcitrat-dihydrat, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat	4,2 l	Ej tillämpligt

* Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans eller blandning.

Förvaring och hantering av reagens

Reagens ska förvaras och hanteras enligt specifikationerna i Tabell 5, Tabell 6 och Tabell 7.

När reagensen inte är laddade i cobas® 5800 System eller cobas® 6800/8800 Systems ska de förvaras i den temperatur som anges i Tabell 5.

Tabell 5 Förvaring av reagens (när reagenset inte är i systemet)

Reagens	Förvaringstemperatur
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

Reagenshantering för cobas® 5800 System

Reagens som laddas i cobas® 5800 System förvaras i rätt temperatur och deras utgångsdatum övervakas av systemet. Systemet tillåter endast att reagens används om alla villkor som anges i Tabell 6 är uppfyllda. Systemet förhindrar automatiskt användning av reagens som har passerat utgångsdatum. I Tabell 6 visas de villkor för hantering av reagens som upprätthålls av cobas® 5800 System.

Tabell 6 Villkor för hållbarhet för reagens som upprätthålls av cobas® 5800 System

Reagens	Utgångsdatum för kitet	Hållbarhet i öppnat kit	Antal körningar som kitet kan användas	Hållbarhet i instrumentet
cobas® BKV	Datumet har inte passerats	90 dagar från första användning	Max 40 körningar	Max 36 dagar**
cobas® EBV/BKV Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt*	Ej tillämpligt	Max 36 dagar**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt*	Ej tillämpligt	Max 36 dagar**
cobas omni Lysis Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning**	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni MGP Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning**	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning**	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Wash Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning**	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt

* Reagens för engångsbruk.

** Tiden mäts från första gången reagenset laddas i cobas® 5800 System.

Reagenshantering för cobas® 6800/8800 Systems

Reagens som laddas i cobas® 6800/8800 Systems förvaras i rätt temperatur och deras utgångsdatum övervakas av systemet. cobas® 6800/8800 Systems tillåter endast att reagens används om alla villkor som anges i Tabell 7 är uppfyllda. Systemet förhindrar automatiskt användning av reagens som har passerat utgångsdatum. I Tabell 7 visas de villkor för hantering av reagens som upprätthålls av cobas® 6800/8800 Systems.

Tabell 7 Villkor för hållbarhet för reagens som upprätthålls av cobas® 6800/8800 Systems

Reagens	Utgångsdatum för kitet	Hållbarhet i öppnat kit	Antal körningar som kitet kan användas	Hållbarhet i instrumentet (sammanlagd tid i instrumentet utanför kylskåp)
cobas® BKV	Datumet har inte passerats	90 dagar från första användning	Max 40 körningar	Max 40 timmar
cobas® EBV/BKV Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt ^a	Ej tillämpligt	Max 8 timmar
cobas® Buffer Negative Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt ^a	Ej tillämpligt	Max 10 timmar
cobas omni Lysis Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni MGP Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Wash Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt

^a Reagens för engångsbruk

* Tiden mäts från första gången reagenset laddas i cobas® 6800/8800 Systems.

Extramaterial som behövs för cobas® 5800 System

Tabell 8 Material och förbrukningsartiklar för användning på cobas® 5800 System

Material	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Tip CORE TIPS med filter, 1 ml	04639642001
Tip CORE TIPS med filter, 300 µl	07345607001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Påse för fast avfall eller Påse för fast avfall med insats	07435967001 eller 08030073001
cobas omni -sekundärrör 13 × 75 (valfritt)	06438776001
cobas® PCR Media Secondary Tube Kit*	07958048190
cobas® PCR Media Tube Replacement Cap Kit	07958056190
cobas® PCR Media Disposable Tube Stand (tillval)	07958064190
MPA-rack 16 mm ljusgrönt 7001-7050*,**	03143449001
RD5-rack – RD-standardrack 0001-0050 LR*,**	11902997001
Provrack med 16 positioner*	09224319001
Hållare för rack med 5 positioner*	09224475001

* Kontakta Roche kundsupport om du vill ha en detaljerad beställningslista över provrack.

** Vi rekommenderar MPA 16 mm-rack eller provrack med 16 positioner för användning med prover som har samlats upp i cobas® PCR Media-rör.

Extramaterial som behövs för cobas® 6800/8800 Systems

Tabell 9 Material och förbrukningsartiklar för användning på cobas® 6800/8800 Systems

Material	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Påse för fast avfall och behållare för fast avfall eller Påse för fast avfall med insats och kit-låda	07435967001 och 07094361001 eller 08030073001 och 08387281001
cobas omni-sekundärrör 13 × 75 (valfritt)	06438776001
cobas® PCR Media Secondary Tube Kit*	07958048190
cobas® PCR Media Tube Replacement Cap Kit	07958056190
cobas® PCR Media Disposable Tube Stand (tillval)	07958064190
MPA-rack 16 mm ljusgrönt 7001-7050*,**	03143449001

* Kontakta Roche kundsupport om du vill ha en detaljerad beställningslista över provrack, rack för igensatta spetsar och rackbrickor som kan användas på instrumenten.

** Vi rekommenderar MPA 16 mm-rack för användning med prover som har samlats upp i cobas® PCR Media-rör.

Tabell 10 Provtagningskit för urinprov som används med cobas® BKV

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

Obs! cobas® PCR Urine Sample Kit används för provtagning och transport av urinprover. Varje cobas® PCR Urine Sample Kit innehåller 100 cobas® PCR-urinprovspaket. Varje paket innehåller 1 engångspipett och 1 cobas® PCR Media-rör som innehåller 4,3 ml cobas® PCR Media. cobas® PCR Media fungerar som ett stabiliserande transport- och förvaringsmedium med nukleinsyra för urinprover.

För urinprover som skickas direkt till laboratoriet utan användning av cobas® PCR Urine Sample Kit vid provtagning kan cobas® PCR Media Kit innehållande 100 cobas® PCR Media-rör (utan engångspipetter) användas som ett alternativ, givet att urin måste överföras inom 24 timmar från provtagning.

Instrument och programvara som behövs

cobas® 5800-programmet och **cobas® BKV**-analyspaketet för **cobas® 5800 System** måste installeras på instrumentet **cobas® 5800**. Programmet Data Manager och en pc för **cobas® 5800 System** medföljer systemet.

cobas® 6800/8800-programmet och **cobas® BKV**-analyspaketet måste installeras på instrumentet/instrumenten. IG-servern (Instrument Gateway) medföljer systemet.

Tabell 11 Instrument

Utrustning	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (flyttbar plattform)	05524245001 och 06379672001
cobas® 6800 System (fast plattform)	05524245001 och 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Provinmatningsmodul	06301037001

Mer information finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas® 5800 System** eller **cobas® 6800/8800 Systems**.

Obs! Kontakta Roche kundsupport om du vill ha en detaljerad beställningslista över primär- och sekundärrör, provrack, rack för igensatta spetsar och rackbrickor som kan användas på instrumenten.

Primärröret som används för urinprovstyper tagna i **cobas® PCR Media** fungerar med **cobas® BKV**.

Försiktighetsåtgärder och information om hantering

Varningar och säkerhetsåtgärder

Liksom för alla testmetoder är det mycket viktigt att använda god laboratorieled för att denna analys ska fungera korrekt. Med hänsyn till testets höga sensitivitet är noggrann hantering nödvändig så att reagens- och amplifieringsblandningarna hålls rena.

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- **cobas® BKV** har inte utvärderats för användning som ett screeningtest för förekomst av BKV i blod eller blodprodukter.
- Alla patientprover ska hanteras som smittbärande material i enlighet med säkra laboratorierutiner som beskrivs i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories och i CLSI-dokumentet M29-A4.^{15, 16} Endast personal som har erfarenhet av att hantera smittbärande material och att använda **cobas® BKV** och **cobas® 5800/6800/8800 Systems** får utföra denna procedur.
- Allt material av humant ursprung ska betraktas som potentiellt smittbärande och hanteras enligt allmänna säkerhetsföreskrifter. Om spill sker, desinficera omedelbart med en färsk lösning bestående av 0,6 % natriumhypoklorit eller kaliumklorid i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspätt 1:10) eller följ de lokala rutinerna.
- **cobas® EBV/BKV Control Kit** innehåller plasma som härstammar från humant blod. Källmaterialet har testats med PCR-metoder och acceptabla låga nivåer av BKV DNA hittades. Det finns inga testmetoder som garanterar att produkter från humant blod inte kan överföra smitta.
- **Frys inte helblod eller urinprover som sparas i primärrör.**
- Använd endast de förbrukningsartiklar som medföljer eller efterfrågas för att säkerställa optimal testprestanda.
- Säkerhetsdatablad (SDS) erhålls på begäran från Roche kundsupport.
- Följ noga de rutiner och riktlinjer som medföljer för att säkerställa att testet utförs korrekt. Avvikelse från rutinerna och riktlinjerna kan göra att testets prestanda inte blir optimal.
- Falskt positiva resultat kan förekomma om kontrollen av carryover av prover är otillräcklig vid provhantering och -bearbetning.
- **cobas® PCR Media** (från primärprovrör) innehåller guanidinhydroklorid. **Guanidinhydroklorid får inte komma i direkt kontakt med natriumhypoklorit (blekmedel) eller några andra högreaktiva reagens som syror eller baser. Dessa blandningar kan bilda en skadlig gas.** Utspilld vätska som innehåller guanidinhydroklorid torkas upp med lämplig laboratedetergent och vatten. Om den utspillda vätskan innehåller potentiellt smittbärande agenser ska det aktuella området **FÖRST** rengöras med laboratedetergent och vatten, och därefter med 0,6 % natriumhypoklorit eller kaliumklorid.
- Informera berörd lokal myndighet om eventuella allvarliga incidenter som inträffar när du använder den här analysen.

Reagenshantering

- Hantera alla reagens, kontroller och prover enligt god laboratoriesed för att förhindra carryover av prover eller kontroller.
- Kontrollera varje reagenskasset, spädningslösning, lyseringsreagens och tvättreagens före användning och försäkra dig om att det inte finns tecken på läckage. Använd inte material om det finns tecken på läckage.
- **cobas omni** Lysis Reagent innehåller guanidintiocyanat, en potentiellt farlig kemikalie. Undvik att reagens kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med rikliga mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå.
- **cobas®** BKV-testkitet, **cobas omni** MGP Reagent och **cobas omni** Specimen Diluent innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Undvik att reagens kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med rikliga mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå. Vid spill av dessa reagens, späd med vatten innan spillet torkas upp.
- Låt inte **cobas omni** Lysis Reagent, som innehåller guanidintiocyanat, komma i kontakt med natriumhypoklorit-lösning (blekmedel). Denna blandning kan bilda en mycket giftig gas.
- Kassera allt material som har kommit i kontakt med prover och reagens enligt gällande nationella, regionala och lokala föreskrifter.

God laboratoriesed

- Pipettera inte med munnen.
- Ät, drick eller rök inte i laboratoriet.
- Använd laboratoriehandskar, laboratorierock och ögonskydd när du hanterar prover och reagens. Handskar ska bytas mellan hantering av prover och **cobas®** BKV-kit, EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C), EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C), **cobas®** Buffer Negative Control Kits och **cobas omni**-reagens för att förhindra kontaminering. Undvik att förorena handskarna när du hanterar prover och kontroller.
- Tvätta händerna noga efter hantering av prover och kitets reagens, och efter att du har tagit av dig handskarna.
- Rengör och desinficera noga alla arbetsytor i laboratoriet med en nyberedd lösning bestående av 0,6 % natriumhypoklorit eller kaliumklorid i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspätt 1:10). Torka därefter av ytan med 70-procentig etanol.
- Om spill förekommer på **cobas®** 5800- eller **cobas®** 6800/8800-instrumentet ska anvisningarna i användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas®** 5800 eller **cobas®** 6800/8800 Systems följas för att rengöra och dekontaminera ytan på instrumenten på rätt sätt.

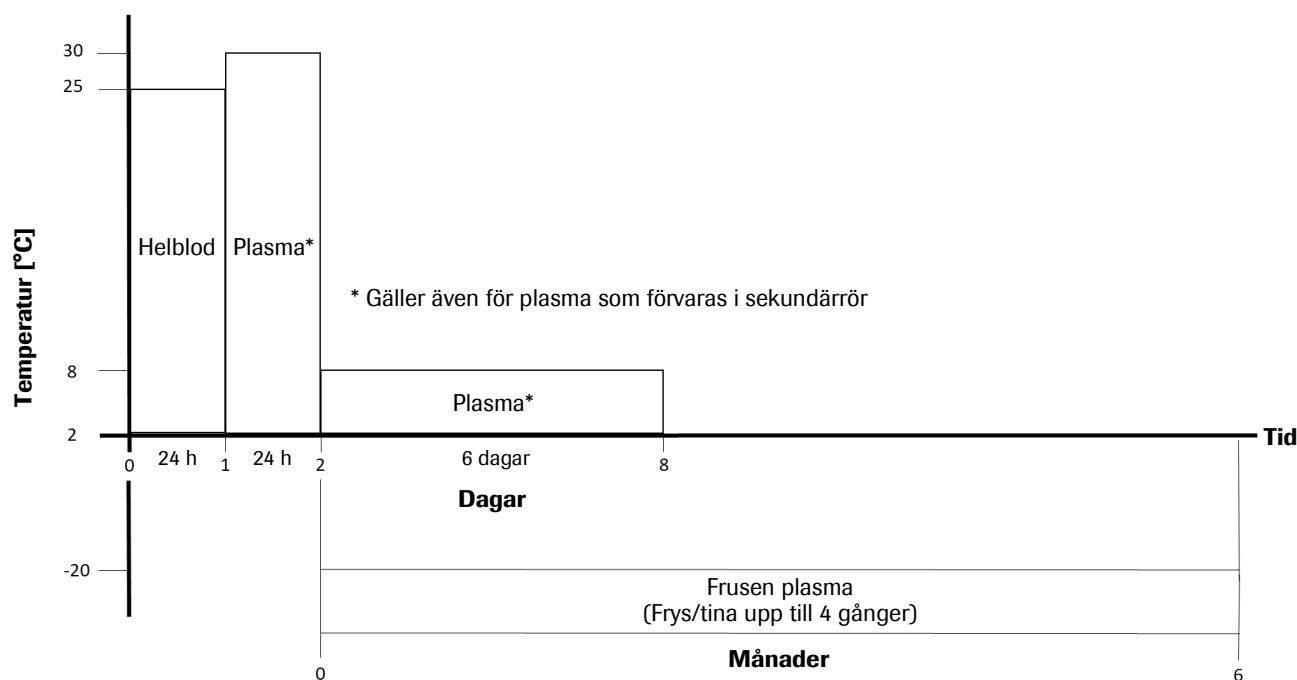
Provtagning, transport och förvaring av prover

Obs! Hantera alla prover och kontroller som potentiellt smittbärande.

EDTA-plasmaprover

- Förvara alla prover vid de angivna temperaturerna. Provernas hållbarhet påverkas vid förhöjda temperaturer.
- Om du använder frusna prover i sekundärrör placerar du proverna i rumstemperatur (15–30 °C) tills de är helt tinade, och sedan blandar du dem en kort stund (t.ex. genom att vortexa 3–5 sekunder) och centrifugerar dem för att samla hela provvolymen i botten av röret.
- Helblod ska samlas upp i BD Vacutainer® PPT™-plasma-preparationsrör för molekyldiagnostiska testmetoder eller i sterila rör med EDTA som antikoagulant. Följ provrörstillverkarens instruktioner. Se Bild 1.
- Helblod som samlats in i BD Vacutainer® PPT™-plasma-preparationsrör för molekyldiagnostiska testmetoder eller i sterila rör med EDTA som antikoagulant kan förvaras och/eller transporteras i upp till 24 timmar i 2–25 °C innan plasmapreparation. Centrifugering ska utföras enligt tillverkarens instruktioner.
- Efter separation kan plasmaprover förvaras i primär- eller sekundärrör i upp till 24 timmar i 2–30 °C, följt av:
 - Förvaring i primär- eller sekundärrör i upp till 6 dagar i 2–8 °C.
 - Förvaring i sekundärrör i upp till 6 månader i ≤ –20 °C.
- Plasmaprover är hållbara i upp till fyra frys/tiningscykler om de fryses i ≤ –20 °C.
- Om prover ska transporteras ska de förpackas och etiketteras i enlighet med nationella och/eller internationella föreskrifter för transport av prover och etiologiska agens.

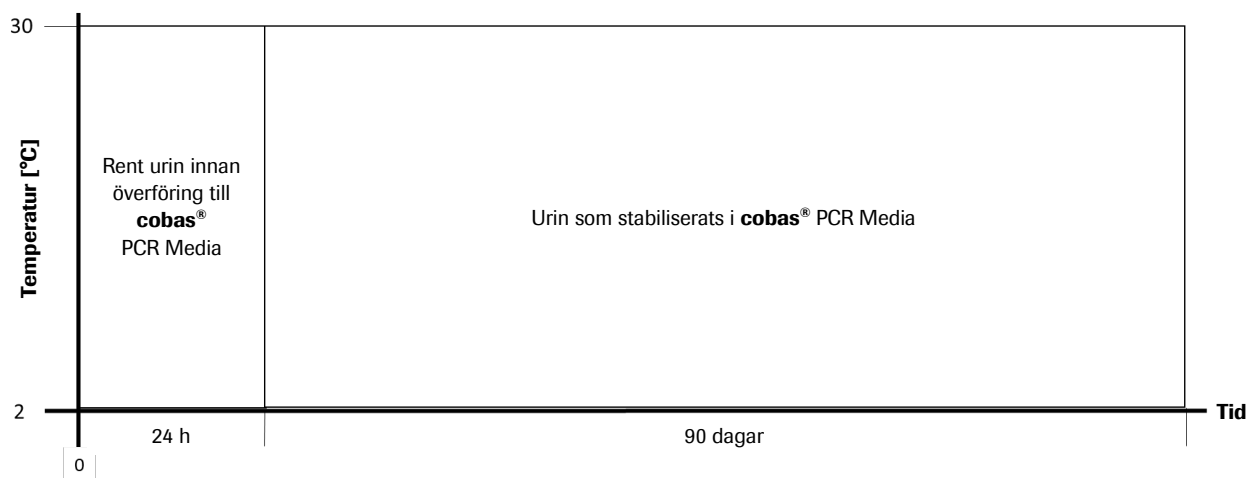
Bild 1 Villkor för provförvaring för EDTA-plasma



Urinprover

- Använd endast **cobas®** PCR Urine Sample Kit för provtagning och stabilisering av urinprover för **cobas®** BKV. **cobas®** BKV har inte validerats för användning med andra urinprovtagningsenheter eller medietyper. Användning av **cobas®** BKV med andra urinprovtagningsenheter eller medietyper kan leda till falskt negativa, falskt positiva och/eller ogiltiga resultat.
- Urinprover måste omedelbart överföras till **cobas®** PCR Media-röret (stabilisering). Om proverna inte kan överföras omedelbart kan de förvaras i 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar.
När urinproverna stabiliserats i **cobas®** PCR Media kan proverna förvaras i upp till 90 dagar i 2–30 °C. Se Bild 2.
- På otestade urinprover ska vätskenivåns oandel befinna sig mellan de två svarta strecken på **cobas®** PCR Media-rörets etikettfönster. Om vätskenivån befinner sig över eller under dessa streck har provet inte tagits korrekt och kan inte användas för testning.
- Om det inte finns tillräcklig urinvolum (4,3 ml) tillgänglig för spädning i **cobas®** PCR Urine Sample-rör kan urin spädas manuellt med **cobas®** PCR Media. Innan testning med **cobas®** BKV måste minst 0,5 ml rent urin spädas i **cobas®** PCR Media (förhållande 1:1).
- För att undvika korskontamination av bearbetade prover ska extra **cobas®** PCR Media-lock i en annan färg (neutral, se **Extramaterial som behövs**) användas för att försluta prover efter testning.
- Om ytterligare testning behövs, kontrollera att det finns minst 1,2 ml prov kvar i **cobas®** PCR Media-röret.
- Om prover ska transporteras ska de förpackas och etiketteras i enlighet med nationella och/eller internationella föreskrifter för transport av prover och etiologiska agens.

Bild 2 Villkor för provförvaring för urin



Bruksanvisning

Anmärkningar om testet

- Använd inte **cobas®** BKV-reagens, **cobas®** EBV/BKV Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit eller **cobas omni**-reagens efter utgångsdatum.
- Återanvänd inte förbrukningsartiklar. De är endast avsedda för engångsbruk.
- Kontrollera att streckodsetiketterna på provrören syns genom öppningarna på sidan av RD5- eller MPA-provracken. I användarhandboken till **cobas®** 5800 System eller **cobas®** 6800/8800 Systems finns specifikationer för streckoderna samt ytterligare information om laddning av provrör.
- I användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas®** 5800 System eller **cobas®** 6800/8800 Systems finns instruktioner om hur underhåll av instrumenten ska utföras.

Köra **cobas®** BKV på **cobas®** 5800 System

cobas® BKV kan köras med minsta provvolym på 375 µl för EDTA-plasma (för provarbetsflödet med 200 µl) och 575 µl för stabiliserade urinprover (för provarbetsflödet med 400 µl). En detaljerad beskrivning av testproceduren finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas®** 5800 System. Proceduren sammanfattas i

Bild 3 nedan.

- Provrören måste avkorkas och ska laddas direkt i rack för bearbetning på **cobas®** 5800 System.
- En och samma körning kan ha en kombination av prover (plasma, stabiliserat urin).

EDTA-plasma och stabiliserade urinprover ska bearbetas med provtagningsalternativet i användargränssnittet (UI) för **cobas®** BKV enligt beskrivningen i Bild 3, steg 2.

Bild 3 cobas® BKV-testprocedur på cobas® 5800 System

1	Logga in i systemet Tryck på Start för att förbereda systemet
2	Ladda prover i systemet: • Ladda provrack i systemet • Systemet förbereds automatiskt • Beställ tester ◦ Välj "Plasma" för beställning av EDTA-plasmaprover ◦ Välj "Urine" för beställning av urinprover som tagits i cobas® PCR Media ▪ Ta bort locket på röret ▪ Överför röret direkt till ett rack
3	Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet: • Ladda testspecifika reagenskassetter • Ladda kontroll-minirack • Ladda processpetsar • Ladda elueringsspetsar • Ladda processplattor • Ladda vätskeavfallsplattor • Ladda amplifieringsplattor • Ladda MGP-kassett • Fyll på spådningsbuffert • Fyll på lyseringsreagens • Fyll på tvättreagens
4	Starta körningen genom att trycka på knappen "Start processing" (Starta bearbetning) i användargränssnittet. Alla efterföljande körningar startar automatiskt om de inte skjuts upp manuellt.
5	Granska och exportera resultat
6	Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolymer för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet: • Mata ut tomma kontroll-minirack • Mata ut tomma testspecifika reagenskassetter • Töm lådan för amplifieringsplattan • Töm vätskeavfallet • Töm det fasta avfallet

Köra cobas® BKV på cobas® 6800/8800 Systems

cobas® BKV kan köras med minsta provvolym på 375 µl för EDTA-plasma (för provarbetsflödet med 200 µl) och 575 µl för stabiliserade urinprover (för provarbetsflödet med 400 µl). En detaljerad beskrivning av instrumentets testprocedur finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till cobas® 6800/8800 Systems. Proceduren sammanfattas i Bild 4 nedan.

- Provrörerna måste avkorkas och ska laddas direkt i rack för bearbetning på cobas® 6800/8800 Systems.
- En och samma körning kan ha en kombination av prover (plasma, stabiliserat urin).
- EDTA-plasma och stabiliserade urinprover ska bearbetas med provtagningsalternativet i användargränssnittet (UI) för cobas® BKV enligt beskrivningen i Bild 4, steg 1.

Bild 4 cobas® BKV-testprocedur på cobas® 6800/8800 Systems

1	Logga in i systemet Tryck på Start för att förbereda systemet Beställ tester: • Välj "Plasma" för beställning av EDTA-plasmaprover • Välj "Urine" för beställning av urinprover som tagits i cobas® PCR Media
2	Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet: • Ladda testspecifik reagenskassett • Ladda kontrollkassetter • Ladda pipettspetsar • Ladda processplattor • Ladda MGP-reagens • Ladda amplifieringsplattor • Fyll på spådningsbuffert • Fyll på lyseringsreagens • Fyll på tvättreagens
3	Ladda prover i systemet: • För primära urinprover som tagits i cobas® PCR Media ○ Ta bort locket på röret ○ Överför röret direkt till ett rack • Ladda provracket och racket för igensatta spetsar påProvinmatningsmodulen • Bekräfta att proverna har tagits emot i överföringsmodulen
4	Starta körningen genom att trycka på knappen "Start manually" (Starta manuellt) i användargränssnittet eller låt körningen starta automatiskt efter 120 minuter eller om provomgången är full
5	Granska och exportera resultat
6	Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolym för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet: • Mata ut tomma kontrollkassetter • Töm lådan för amplifieringsplattan • Töm vätskeavfallet • Töm det fasta avfallet

Resultat

cobas® 5800/6800/8800 Systems fastställer automatiskt BKV DNA-koncentrationen för proverna och kontrollerna. BKV DNA-koncentrationen uttrycks i internationella enheter per milliliter (IU/ml).

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på **cobas® 5800 System**

- En negativ kontroll [(-) Ctrl] och två positiva kontroller, en lågpositiv kontroll [EBV/BKV L(+)C] och en högpositiv kontroll [EBV/BKV H(+)C] bearbetas minst var 72:a timme och i varje ny kitlot. Positiva och/eller negativa kontroller kan schemaläggas mer frekvent baserat på laboratorierutinerna och/eller de gällande lokala bestämmelserna.
- Kontrollera om det finns flaggor till resultaten i **cobas® 5800**-programmet och/eller i rapporten för att säkerställa giltigheten för resultaten.

Ogiltigförklarande av resultat utförs automatiskt av **cobas® 5800**-programmet baserat på misslyckade negativa eller positiva kontroller.

OBS! **cobas® 5800 System** levereras med standardinställningen för körning av en uppsättning kontroller (positiva och negativa) i varje körning, men kan konfigureras till ett mindre frekvent körschema på upp till var 72:a timme, baserat på laboratorierutinerna och/eller de gällande lokala bestämmelserna. Kontakta Roche kundsupport om du vill ha mer information.

Kontrollresultat på **cobas® 5800 System**

Resultaten för kontrollerna visas i **cobas® 5800**-programmet i appen "Controls".

- Kontroller är markerade med "Valid" (Giltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om alla targets för kontrollen har rapporterats som giltiga. Kontroller är markerade med "Invalid" (Ogiltig) i kolumnen "Control result" om alla targets eller en target för kontrollen har rapporterats som ogiltig.
- Kontroller som är markerade med "Invalid" har en flagga i kolumnen "Flags" (Flaggor). Mer information om varför kontrollen har rapporterats som ogiltig (inklusive flagginformation) visas i vyn med detaljerad information.
- Om en av kontrollerna är ogiltig måste du upprepa testningen av alla kontroller och alla associerade prover.

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på **cobas® 6800/8800 Systems**

- En negativ kontroll [(-) Ctrl] och två positiva kontroller, en lågpositiv kontroll [EBV/BKV L(+)C] och en högpositiv kontroll [EBV/BKV H(+)C] bearbetas i varje provomgång.
- Kontrollera om det finns flaggor till resultaten i **cobas® 6800/8800**-programmet och/eller i rapporten för att säkerställa giltigheten för provomgången.
- Provomgången är giltig om inga flaggor visas för samtliga tre kontroller, vilket inkluderar en negativ kontroll och två positiva kontroller: EBV/BKV L(+)C, EBV/BKV H(+)C. Resultatet för den negativa kontrollen visas som (-) Ctrl och den lågpositiva och högpositiva kontrollen visas som EBV/BKV L(+)C och EBV/BKV H(+)C.

Ogiltigförklarande av resultat utförs automatiskt av **cobas® 6800/8800**-programmet baserat på misslyckade negativa och positiva kontroller.

Kontrollflaggor på cobas® 6800/8800 Systems

Tabell 12 Kontrollflaggor för negativa och positiva kontroller

Negativ kontroll	Flagga	Resultat	Betydelse
(-) Ctrl	Q02 (Misslyckad kontrollbatch)	Ogiltig	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den negativa kontrollen är inte negativt.
Positiv kontroll	Flagga	Resultat	Betydelse
EBV/BKV L(+)C	Q02 (Misslyckad kontrollbatch)	Ogiltig	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den lågpositiva kontrollen ligger inte inom det tilldelade intervallet.
EBV/BKV H(+)C	Q02 (Misslyckad kontrollbatch)	Ogiltig	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den högpositiva kontrollen ligger inte inom det tilldelade intervallet.

Om kontrollomgången är ogiltig måste du upprepa testningen av samtliga prover i den aktuella provomgången.

Tolkning av resultat

För en giltig omgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i **cobas® 5800 System-** och **cobas® 6800/8800 Systems-**programmen och/eller i rapporter. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- En giltig omgång kan innehålla båda giltiga och ogiltiga provresultat.

Tabell 13 Tolkning av enskilda target-resultat

Resultat	Betydelse
Target Not Detected	BKV DNA inte detekterat. Rapportera resultat som "BKV inte detekterat".
< Titer Min ^a	Beräknad titer ligger under analysens nedre kvantifieringsgräns (LLOQ). Rapportera resultat som "BKV detekterat, mindre än (Titer Min)". Titer Min för EDTA-plasma = 21,5 IU/ml Titer Min för urin = 200 IU/ml
Titer	Beräknad titer ligger inom analysens linjära intervall – större än eller lika stor som Titer Min och mindre än eller lika stor som Titer Max. Rapportera resultat som "(Titer) av BKV detekterad".
> Titer Max ^b	Beräknad titer ligger över analysens övre kvantifieringsgräns (ULOQ). Rapportera resultat som "BKV detekterat, större än (Titer Max)". Titer Max för EDTA-plasma och urin = 1,0E+08 IU/ml

^a Provresultat < Titer Min (Target Detected < LLOQ) ska tolkas i samband med andra kliniska data och ska inte användas som enda grund för val av behandling.

^b Provresultat > Titer Max hänvisar till BKV-positiva prover som detekterats med titrar över analysens övre kvantifieringsgräns (ULOQ). Om ett kvantitativt resultat önskas för EDTA-plasmaprover ska det ursprungliga provet spädas med BKV-negativ human EDTA-plasma och testet upprepas. Multiplicera det rapporterade resultatet med spädningsfaktorn.

Tolkning av resultat för cobas® 5800 System

Resultaten för proverna visas i **cobas® 5800**-programmet i appen "Results".

För en giltig kontrollomgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i **cobas® 5800**-programmet och/eller i rapporten. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- Prover associerade med en giltig kontrollomgång visas som "Valid" (Giltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om alla kontroll-target-resultat har rapporterats som giltiga. Prover associerade med en misslyckad kontrollomgång visas som "Invalid" (Ogiltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om alla kontroll-target-resultat har rapporterats som ogiltiga.
- Om de associerade kontrollerna för ett provresultat är ogiltiga läggs en specifik flagga till enligt följande:
 - Q05D: Fel vid resultatvalidering på grund av en ogiltig positiv kontroll
 - Q06D: Fel vid resultatvalidering på grund av en ogiltig negativ kontroll
- Värdena i kolumnen "Results" (Resultat) för enskilda prov-target-resultat ska tolkas enligt Tabell 13 ovan.

Om ett eller flera prov-targets har markerats med "Invalid" visar **cobas® 5800**-programmet en flagga i kolumnen "Flags" (Flaggor). Mer information om varför prov-targets har rapporterats som ogiltiga (inklusive flagginformation) visas i vyn med detaljerad information.

Tolkning av resultat för cobas® 6800/8800 Systems

För en giltig omgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i **cobas® 6800/8800 Systems**-programmet och/eller i rapporten. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- Prover markeras med "Yes" i kolumnen "Valid" om alla begärda target-resultat rapporterade giltiga resultat. Prover som markeras med "No" i kolumnen "Valid" kan behöva tolkas och åtgärdas ytterligare.
- Värdena för enskilda prov-target-resultat ska tolkas enligt Tabell 13 ovan.

Testets begränsningar

- **cobas®** BKV har endast validerats för användning tillsammans med **cobas®** EBV/BKV Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent och **cobas omni** Wash Reagent för användning på **cobas®** 5800/6800/8800 Systems.
- Tillförlitliga resultat förutsätter rätt provtagning, förvaring och hantering av prover.
- Detta test har endast validerats för användning med EDTA-plasma och stabiliserat urin. Testning av andra provtyper med **cobas®** BKV kan resultera i felaktiga resultat. Mätningar av DNA-nivå i plasma och stabiliserat urin är inte direkt jämförbara med varandra eller med andra provtyper.
- Kvantifiering av BKV DNA kan påverkas av provtagningsmetod, patientfaktorer (t.ex. ålder, förekomst av symptom) och/eller infektionsstadium.
- Nedbrytning av BKV DNA i rent urin kan påverka kvantifieringen.¹⁷ Överföring av urin till **cobas®** PCR Media krävs för att uppnå provstabilitet.
- Kvantitativ variabilitet för BKV DNA i urin har observerats i provstabilitetsexperiment vid olika provtagnings-tillfällen (rent urin) eller i olika alikvoter av samma prov (rent urin och urin som stabiliserats i **cobas®** PCR Media).
- Givet begränsningarna ska resultat för BKV DNA i urin tolkas med försiktighet med hänsyn till relevanta kliniska fynd och laboratoriefynd, och ska inte användas som enda grund för val av behandling.
- Urin kan innehålla höga nivåer av BKV DNA, med risk för carryover-kontamination.¹⁸
- Liksom med alla molekylära test kan mutationer inom målregionerna för **cobas®** BKV påverka primer- och/eller probbindning, vilket resulterar i för låg kvantifiering av virus eller misslyckad detektering av förekomst av virus.
- På grund av inneboende skillnader mellan metoder rekommenderas användaren, innan en metod byts ut mot en annan, att genomföra metodkorrelationsanalyser i laboratoriet för att bestämma skillnaderna mellan metoderna. Användarna ska följa sina egna specifika regler och procedurer.
- **cobas®** BKV är inte avsett för användning som ett screeningtest för förekomst av BKV i blod eller blodprodukter.

Utvärdering av icke-klinisk prestanda

Viktiga prestandaegenskaper för EDTA-plasmaprover som körs på cobas® 6800/8800 Systems

Detektionsgräns (LoD) med WHO:s internationella standard

Detektionsgränsen för cobas® BKV för WHO:s internationella standard bestämdes genom analys av seriella spädningar av WHO:s första internationella standard för BKV erhållen från NIBSC (NIBSC 14/212), i BKV-negativ human EDTA-plasma. Paneler med sex koncentrationsnivåer plus ett blankprov testades med tre loter av cobas® BKV-reagens under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument.

Resultaten för EDTA-plasma visas i Tabell 14 till Tabell 16. Studien visar att med den minst känsliga loten så är den koncentration för vilken en 95-procentig träffsannolikhet kan förväntas med PROBIT lika med 21,5 IU/ml med ett 95-procentigt konfidensintervall på 16,3–32,4 IU/ml i EDTA-plasma. Den lägsta koncentrationen med en träffsannolikhet $\geq 95\%$ är 19,0 IU/ml i EDTA-plasma.

Tabell 14 Detektionsgräns i EDTA-plasma, lot 1

Input-koncentration för titer (BKV DNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	46	73,0
4,75	63	36	57,1
2,38	63	23	36,5
0	62	0	0,0
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	21,5 IU/ml 95 % konfidensintervall: 16,3–32,4 IU/ml		

Tabell 15 Detektionsgräns i EDTA-plasma, lot 2

Input-koncentration för titer (BKV DNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
80,0	62	62	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	61	96,8
9,5	63	48	76,2
4,75	63	34	54,0
2,38	62	23	37,1
0	62	0	0,0
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	19,7 IU/ml 95 % konfidensintervall: 15,0–29,2 IU/ml		

Tabell 16 Detektionsgräns i EDTA-plasma, lot 3

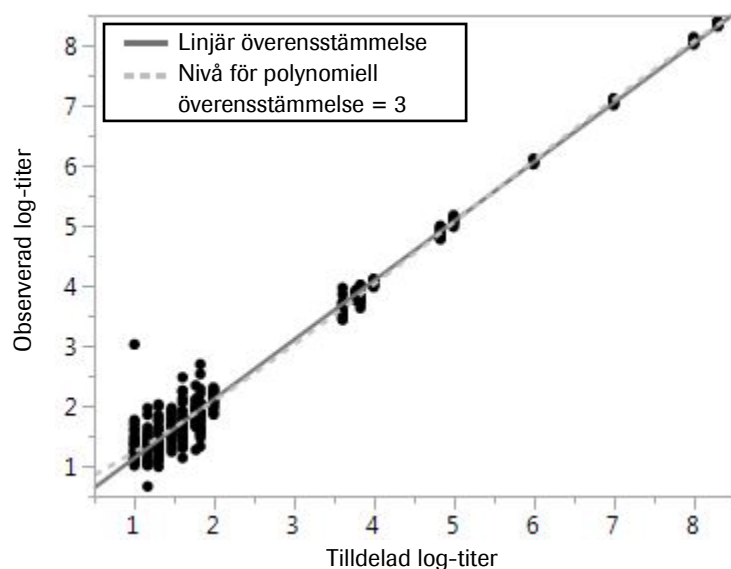
Input-koncentration för titer (BKV DNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	50	79,4
4,75	63	35	55,6
2,38	63	22	35,0
0	63	0	0,0
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	19,3 IU/ml 95 % konfidensintervall: 14,8–28,5 IU/ml		

Linjärt intervall

Linjäriteten för **cobas**® BKV utvärderades med hjälp av en spädningsserie som bestod av 18 panelprover med BKV undergrupp Ib-DNA som täckte in analysens linjära intervall. En lambda-DNA-stam med hög titer användes för att bereda 11 panelprover som täckte in hela det linjära intervallet. Ett kliniskt prov användes för att bereda sju panelprover som täckte in de medelhöga och lägre nivåerna i det linjära intervallet.

Varje panelprov testades med 36 replikat över tre loter av **cobas**® BKV-reagens och resultaten för studien presenteras i Bild 5.

Linjäritet för **cobas**® BKV visades från 1,01E+01 till 1,97E+08 IU/ml och visar en absolut avvikelse från den bättre passande icke-linjära regressionen på mindre än eller lika med $\pm 0,1 \log_{10}$ i human EDTA-plasma (se Bild 5). Över hela det linjära intervallet var noggrannheten för testet inom $\pm 0,2 \log_{10}$.

Bild 5 Bestämning av linjärt intervall i EDTA-plasma

Precision – inom laboratoriet

Precision för **cobas®** BKV bestämdes genom analys av seriella spädningar av BKV DNA (undergrupp Ib) med hög titer i BKV-negativ EDTA-plasma. Fem spädningsnivåer testades i 72 replikat för varje nivå över tre loter av **cobas®** BKV-reagens med fyra instrument och två användare under 12 dagar. Varje prov genomgick hela **cobas®** BKV-proceduren på helt automatiska **cobas®** 6800/8800 Systems. Därför representerar den precision som anges här alla aspekter av testproceduren. Resultaten visas i Tabell 17.

cobas® BKV visade hög precision för tre reagensloter som testades i ett koncentrationsintervall från 9,83E+01 IU/ml till 9,83E+05 IU/ml.

Tabell 17 Precision inom laboratoriet för **cobas®** BKV*

Nominell koncentration [IU/ml]	Tilldelad koncentration (IU/ml)	EDTA-plasma			
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
		SD	SD	SD	Poolad 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

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt $\log_{10}$. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Verifiering av subtyp

Prestandan för **cobas**® BKV med BKV-subtyperna I (med undergrupperna Ia och Ic), II, III och IV utvärderades genom:

- Verifiering av detektionsgränsen
- Verifiering av det linjära intervallet

Verifiering av detektionsgränsen för subtyperna I (med undergrupperna Ia och Ic), II, III och IV

BKV DNA för de fem olika subtyperna/undergrupperna (Ia, Ic, II, III och IV) späddes till tre olika koncentrationsnivåer i BKV-negativ EDTA-plasma. Bestämning av träffsannolikheten utfördes med 63 replikat för varje nivå. Testningen utfördes med tre loter av **cobas**® BKV-reagens under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument. De här resultaten bekräftar att **cobas**® BKV detekterade BKV DNA för fem olika subtyper/undergrupper vid koncentrationer på 21,5 IU/ml med en träffsannolikhet på ≥ 95 %.

Verifiering av det linjära intervallet för subtyperna I (med undergrupperna Ia och Ic), II, III och IV

Spädningsserierna som användes i linjäritetsstudien för verifiering av linjäritet för subtyp/undergrupp i **cobas**® BKV bestod av åtta panelprover som täckte in det linjära intervallet för analysen. Testningen utfördes med tre loter av **cobas**® BKV-reagens, där 12 replikat per nivå testades i EDTA-plasma.

Det linjära intervallet för **cobas**® BKV verifierades för alla fem subtyperna/undergrupperna (Ia, Ic, II, III och IV).

Specifitet

Specifiteten för **cobas**® BKV bestämdes genom analys av BKV-negativa EDTA-plasmaprover från individuella blodgivare. Här testades 104 enskilda EDTA-plasmaprover med tre loter av **cobas**® BKV-reagens. Alla prover testades som negativa för BKV DNA. I testpanelen var specifiteten för **cobas**® BKV 100 % (nedre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall: 97,16 %).

Analytisk specifitet

Den analytiska specifiteten för **cobas**® BKV utvärderades genom att testa en provpanel med mikroorganismer vid en koncentration på 1,00E+06 enheter/ml (CFU/ml, celler/ml, CCU/ml, IFU/ml) för bakterier och svamp och mellan 1,00E+05 enheter/ml och 1,00E+06 enheter/ml (kopior/ml, TCID₅₀/ml, IU/ml, celler/ml) för virus. Mikroorganismer späddes i BKV DNA-negativ human EDTA-plasma samt i human EDTA-plasma innehållande (100 IU/ml) BKV DNA. De specifika organismer som testades listas i Tabell 18. Varje prov testades med tre replikat. Inga av icke-BKV-patogenerna interfererade med testets prestanda vid de testade koncentrationerna. Negativa resultat erhöles med **cobas**® BKV för alla mikroorganismprover utan BKV-mål och positiva resultat erhöles för alla mikroorganismprover med BKV-mål. Dessutom var den genomsnittliga log₁₀-titern för vart och ett av de positiva BKV-proverna som innehöll potentiellt korsreagerande organismer inom $\pm 0,5$ log₁₀ för den genomsnittliga log₁₀-titern för den respektive positiva spikade kontrollen.

Tabell 18 Mikroorganismer som testades för korsreaktivitet

Virus	Bakterier	Svamp
Adenovirus typ 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Cytomegalovirus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Epstein-Barr-virus	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatit B-virus	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Hepatit C-virus	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Herpes simplex-virus typ 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Herpes simplex-virus typ 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Humant herpesvirus typ 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Humant herpesvirus typ 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Humant herpesvirus typ 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Humant immunbristvirus 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Humant immunbristvirus 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Humant papillomavirus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
JC-virus	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovirus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Simianvirus 40	-	-
Varicella-zoster-virus	-	-

Analytisk specificitet – interfererande substanser

Förhöjda nivåer av triglycerider (33 g/l), konjugerat bilirubin (0,2 g/l), okonjugerat bilirubin (0,2 g/l), albumin (60 g/l), hemoglobin (2 g/l) och humant DNA (2 mg/l) i proverna testades vid förekomst (100 IU/ml) och avsaknad av BKV DNA. De testade endogena interferenserna visades inte interferera med testprestandan för **cobas®** BKV.

Dessutom testades läkemedelsföreningarna som listas i Tabell 19 vid tre gånger $C_{\max}$ vid förekomst och avsaknad av BKV DNA.

Alla potentiellt interfererande substanser har visats inte interferera med testets prestanda. Negativa resultat erhöles med **cobas®** BKV för alla prover utan BKV-mål och positiva resultat erhöles för alla prover med BKV-mål. Dessutom var den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för vart och ett av de positiva BKV-proverna som innehöll potentiellt interfererande substanser inom $\pm 0,5 \log_{10}$ för den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för den respektive positiva spikade kontrollen.

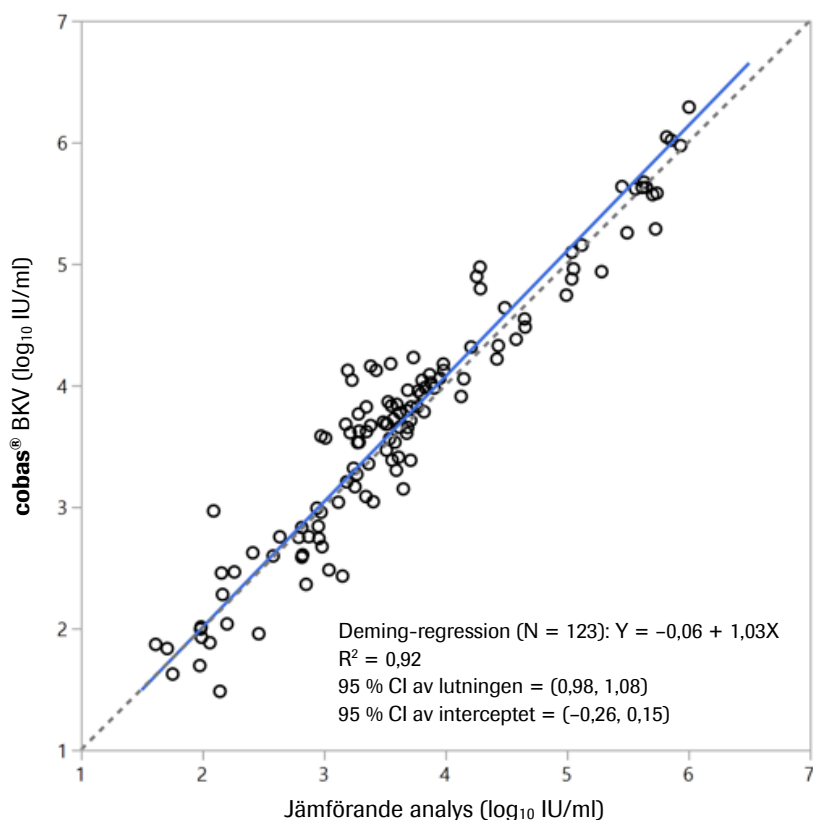
Tabell 19 Läkemedelsföreningar testade för interferens med kvantifiering av BKV DNA med **cobas®** BKV

Läkemedelsgrupp	Generiskt läkemedelsnamn	
Antimikrobiella	Cefotetan	Sulfametoxazol
	Kaliumklavulanat	Ticarcillin disodium
	Flukonazol	Trimetoprim
	Piperacillin	Vankomycin
	Tazobactam sodium	Micafungin
Föreningar för behandling av herpesvirus	Ganciklovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foskarnet
	Acyklovir	Letermovir
Immunosuppressiva	Azatioprin	Prednison
	Cyklosporin	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Mykofenolat mofetil	Mykofenolsyra

Metodkorrelation

Prestandan för **cobas®** BKV utvärderades genom jämförelse med en annan analys där EDTA-plasmaprover från BKV-inficerade patienter analyserades. EDTA-plasmaprover som låg inom kvantifieringsintervallet för båda testen testades som enskilda replikat. Demings regressionsanalys utfördes.

Resultaten för Demings regressionsanalys visas i Bild 6.

Bild 6 Regressionsanalys för cobas® BKV jämfört med en jämförande analys

Felfrekvens inom hela systemet

Felfrekvensen inom hela systemet för cobas® BKV bestämdes genom testning av 100 replikat av EDTA-plasma spikat med ett BKV-positivt kliniskt prov. De här proverna testades vid en koncentration på $3 \times \text{LoD}$.

Resultaten i den här studien fastställde att samtliga replikat var giltiga och positiva för BKV-målet, vilket gav en felfrekvens inom hela systemet på 0 % (övre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall 2,95 %).

Korskontamination

Nivån för korskontamination för cobas® BKV bestämdes genom testning av 240 replikat av ett BKV-negativt matrisprov och 225 replikat av ett BKV DNA-prov med hög titer vid ungefär $2,00\text{E}+07$ IU/ml. Sammanlagt fem körningar utfördes med positiva och negativa prover i en checkerboard-konfiguration.

Samtliga 240 replikat av det negativa provet var negativt, vilket gav en korskontaminationsnivå på 0 % (övre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall 1,24 %).

Viktiga prestandaegenskaper för urinprovstyp på cobas® 6800/8800 Systems

Detektionsgräns (LoD) med WHO:s internationella standard

Detektionsgränsen för cobas® BKV för WHO:s internationella standard bestämdes genom analys av seriella spädningar av WHO:s första internationella standard för BKV erhållen från NIBSC (NIBSC 14/212), i BKV-negativt poolat urin som stabiliserats i cobas® PCR Media. Paneler med sex koncentrationsnivåer plus ett blankprov testades med tre loter av cobas® BKV-reagens under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument.

Resultaten för poolat urin som stabiliserats i cobas® PCR Media visas i Tabell 20 till Tabell 22. Studien visar att med den minst känsliga loten så är den koncentration för vilken en 95-procentig träffsannolikhet kan förväntas med PROBIT lika med 12,2 IU/ml med ett 95-procentigt konfidensintervall på 9,2–18,3 IU/ml i rent urin. Den lägsta koncentrationen med en träffsannolikhet $\geq 95\%$ är 10,0 IU/ml i rent urin.

Tabell 20 Detektionsgräns i urin, lot 1

Input-koncentration för titer (BKV DNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	60	95,2
5,0	63	47	74,6
2,5	63	25	39,7
1,25	63	26	41,3
0	63	0	0,0
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	12,2 IU/ml 95 % konfidensintervall: 9,2–18,3 IU/ml		

Tabell 21 Detektionsgräns i urin, lot 2

Input-koncentration för titer (BKV DNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	60	95,2
5,0	63	42	66,7
2,5	63	32	50,8
1,25	63	17	27,0
0	63	0	0,0
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	11,9 IU/ml 95 % konfidensintervall: 9,2–17,3 IU/ml		

* Testade urinprover som stabiliserats i cobas® PCR Media. Input-koncentration för titer som använts för beräkning baserad på rent urin.

Tabell 22 Detektionsgräns i urin, lot 3

Input-koncentration för titer (BKV DNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	61	96,8
5,0	63	46	73,0
2,5	63	39	61,9
1,25	63	19	30,2
0	63	0	0,0
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	10,1 IU/ml 95 % konfidensintervall: 7,8–14,7 IU/ml		

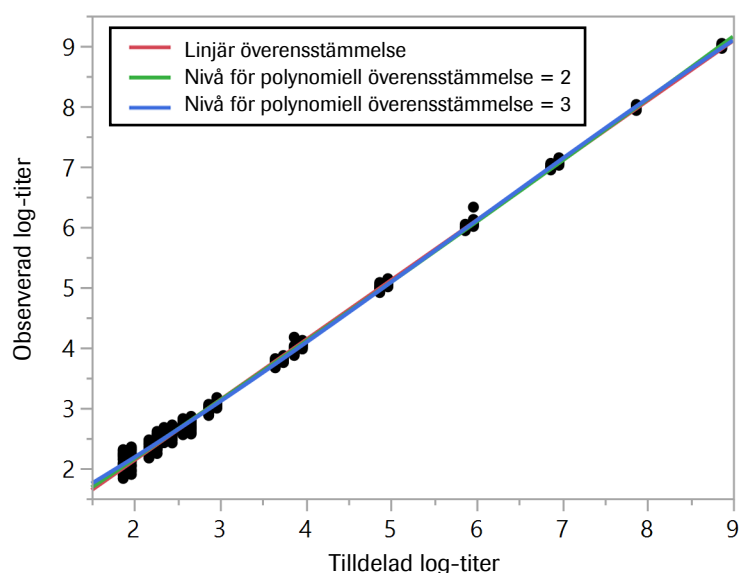
* Testade urinprover som stabiliserats i **cobas**® PCR Media. Input-koncentration för titer som använts för beräkning baserad på rent urin.

Linjärt intervall

Linjäriteten för **cobas**® BKV utvärderades med hjälp av en spädningsserie som bestod av 10 panelprover med ett kliniskt prov (BKV undergrupp Ib) som täckte in analysens linjära intervall. En lambda-DNA-stam med hög titer användes för att bereda 12 panelprover som täckte in hela det linjära intervallet.

Varje panelprov testades med 36 replikat över tre loter av **cobas**® BKV-reagens och resultaten för studien presenteras i Bild 7.

Linjäritet för **cobas**® BKV visades från $7,41\text{E}+01$ IU/ml till $7,41\text{E}+08$ IU/ml och visar en absolut avvikelse från den bättre passande icke-linjära regressionen på mindre än eller lika med $\pm 0,1 \log_{10}$ i poolat urin som stabiliserats i **cobas**® PCR Media (se Bild 7). Över hela det linjära intervallet var noggrannheten för testet inom $\pm 0,2 \log_{10}$.

Bild 7 Bestämning av linjärt intervall i urin

Precision – inom laboratoriet

Precision för **cobas**® BKV bestämdes genom analys av seriella spädningar av BKV DNA (undergrupp Ib) med hög titer i BKV-negativt poolat urin som stabiliserats i **cobas**® PCR Media. Fem spädningsnivåer testades i 72 replikat för varje nivå över tre loter av **cobas**® BKV-reagens med två instrument och två användare under 12 dagar. Varje prov genomgick hela **cobas**® BKV-proceduren på helt automatiska **cobas**® 6800/8800 Systems. Därför representerar den precision som anges här alla aspekter av testproceduren. Resultaten visas i Tabell 23.

cobas® BKV visade hög precision för tre reagensloter som testades i ett koncentrationsintervall från 7,41E+02 IU/ml till 7,41E+05 IU/ml.

Tabell 23 Precision inom laboratoriet för **cobas**® BKV*

Nominell koncentration [IU/ml]	Tildelad koncentration (IU/ml)	Urin som stabiliserats i cobas ® PCR Media			
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
		SD	SD	SD	Poolad 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

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt log₁₀. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Verifiering av subtyp

Prestandan för **cobas**® BKV med BKV-subtyperna I (med undergrupperna Ia och Ic), II, III och IV utvärderades genom:

- Verifiering av detektionsgränsen
- Verifiering av det linjära intervallet

Verifiering av detektionsgränsen för subtyperna I (med undergrupperna Ia och Ic), II, III och IV

BKV DNA för de fem olika subtyperna/undergrupperna (Ia, Ic, II, III och IV) späddes till tre olika koncentrationsnivåer i BKV-negativt poolat urin som stabiliserats i **cobas**® PCR Media. Bestämning av träffsannolikheten utfördes med 63 replikat för varje nivå. Testningen utfördes med tre loter av **cobas**® BKV-reagens under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument. De här resultaten bekräftar att **cobas**® BKV detekterade BKV DNA för fem olika subtyper/undergrupper vid koncentrationer på 12,2 IU/ml med en träffsannolikhet på ≥ 95 %.

Verifiering av det linjära intervallet för subtyperna I (med undergrupperna Ia och Ic), II, III och IV

Spädningsserierna som användes i linjäritetsstudien för verifiering av linjäritet för subtyp/undergrupp i **cobas**® BKV bestod av åtta panelprover som täckte in det linjära intervallet för analysen. Testningen utfördes med tre loter av **cobas**® BKV-reagens, där 12 replikat per nivå testades i urin som stabiliserats i **cobas**® PCR Media.

Det linjära intervallet för **cobas**® BKV verifierades för alla fem subtyperna/undergrupperna (Ia, Ic, II, III och IV).

Specificitet

Specificiteten för **cobas**® BKV bestämdes genom analys av BKV-negativa urinprover (från individuella donatorer) som stabiliserats i **cobas**® PCR Media. Här testades 100 enskilda urinprover med tre loter av **cobas**® BKV-reagens. Alla prover testades som negativa för BKV DNA. I testpanelen var specificiteten för **cobas**® BKV 100 % (nedre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall: 97,05 %).

Analytisk specificitet

Den analytiska specificiteten för **cobas**® BKV utvärderades genom att testa en provpanel med mikroorganismer vid en koncentration på mellan 1,00E+06 enheter/ml och 2,00E+06 enheter/ml (CFU/ml, celler/ml, CCU/ml, IFU/ml) för bakterier och svamp och på 1,00E+05 enheter/ml (kopior/ml, TCID₅₀/ml, IU/ml, celler/ml) för virus. Mikroorganismer späddes i BKV DNA-negativt urin samt i urin innehållande (600 IU/ml) BKV DNA. De specifika organismer som testades listas i Tabell 24. Varje prov testades med tre replikat. Inga av icke-BKV-patogenerna interfererade med testets prestanda vid de testade koncentrationerna. Negativa resultat erhöles med **cobas**® BKV för alla mikroorganismprover utan BKV-mål och positiva resultat erhöles för alla mikroorganismprover med BKV-mål. Dessutom var den genomsnittliga log₁₀-titern för vart och ett av de positiva BKV-proverna som innehöll potentiellt korsreagerande organismer inom ±0,5 log₁₀ för den genomsnittliga log₁₀-titern för den respektive positiva spikade kontrollen.

Tabell 24 Mikroorganismer som testades för korsreaktivitet

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

Analytisk specificitet – interfererande substanser

Förhöjda nivåer av albumin (0,5 % vikt/volym), konjugerat bilirubin (1 % vikt/volym), glukos (1 % vikt/volym), perifera mononukleära blodceller (1,00E+06 celler/ml), slem (1 pinne med slem per 4,3 ml prov), surt pH (pH 4), alkaliskt pH (pH 9), sperma (1 pinne doppad i sperma per 4,3 ml prov), natrium (300 mEq/l) och helblod (10 % volymprocent) i prover testades vid förekomst (600 IU/ml) och avsaknad av BKV DNA. De testade endogena interferenserna visades inte interferera med testprestandan för **cobas®** BKV.

Dessutom testades läkemedelsföreningarna som listas i Tabell 25 vid förekomst och avsaknad av BKV DNA.

Alla potentiellt interfererande substanser, med undantag för talkpuder, har visats inte interferera med testets prestanda. Talkpuder vid $\leq 0,05$ % visade ingen interferens med **cobas®** BKV. Negativa resultat erhöles med **cobas®** BKV för alla prover utan BKV-mål och positiva resultat erhöles för alla prover med BKV-mål. Dessutom var den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för vart och ett av de positiva BKV-proverna som innehöll potentiellt interfererande substanser inom $\pm 0,5 \log_{10}$ för den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för den respektive positiva spikade kontrollen.

Tabell 25 Läkemedelsföreningar testade för interferens med kvantifiering av BKV DNA med **cobas®** BKV

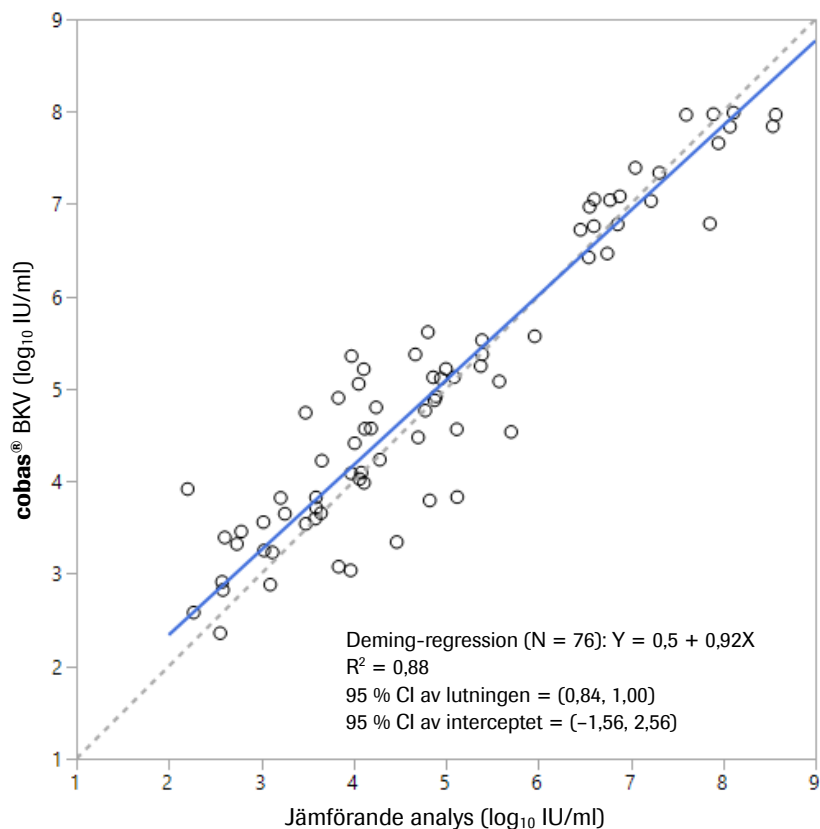
Läkemedelsgrupp	Aktiv komponent	Koncentration	Generiskt läkemedelsnamn
Antimikrobiella	Clotrimazol	100 µg/ml	Gyne-Lotrimin 7
	Metronidazol	701 µmol/l	Arilin rapid Vaginala suppositorier Vagi Metro Cream Nidazea Gel
Östrogen steroidhormon	Estradiol	4,41 nmol/l	Estrace
Smärtstillande läkemedel	Fenazopyridinhydroklorid	200 µg/ml	Azo Standard
	Acetaminofen	1324 µmol/l	Acetaminofen
Glidmedel	Propylenglykol	1000 µg/ml	K-Y UltraGel
Icke-steroida antiinflammatoriska medel	Acetylsalicylsyra	3,62 mmol/l	Acetylsalicylsyra
	Naproxen	2170 µmol/l	Naproxen
	Ibuprofen	2425 µmol/l	Ibuprofen
Ej tillämpligt	Talk	0,05 % (vikt/volym)	Talkpuder

Metodkorrelation

Prestandan för **cobas**® BKV utvärderades genom jämförelse med en annan analys där urinprover från BKV-infekterade patienter analyserades. Urinprover som låg inom kvantifieringsintervallet för båda testen testades som enskilda replikat. Demings regressionsanalys utfördes.

Resultaten för Demings regressionsanalys visas i Bild 8.

Bild 8 Regressionsanalys för **cobas**® BKV jämfört med en jämförande analys



Korskontamination

Nivån för korskontamination för **cobas**® BKV bestämdes genom testning av 240 replikat av ett BKV-negativt matrisprov och 225 replikat av ett BKV DNA-prov med hög titer vid ungefär $1,00E+09$ IU/ml. Sammanlagt fem körningar utfördes med positiva och negativa prover i en checkerboard-konfiguration.

Samtliga 240 replikat av det negativa provet var negativt, vilket gav en korskontaminationsnivå på 0,0 % (övre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall 1,24 %).

Utvärdering av klinisk prestanda på cobas® 6800/8800 Systems

Reproducerbarhet för cobas® BKV för EDTA-plasmaprover

Reproducerbarheten för cobas® BKV utvärderades med faktorer (reagenslot, testplats, provomgång och testdagar) som kan påverka de rapporterade resultaten i rutinmässig klinisk testning. Utvärderingen gjordes på 3 testplatser med 3 reagensloter, med en panel med positiva och negativa prover med totalt 270 tester per koncentration (kontroller ej inkluderade). Panelerna utgjordes av EDTA-plasma som var BKV VCA IgG-negativ och som testats för BKV med ett releaseprotokoll för plasma-NAT, och spikats med en internationell WHO-standard för BKV, eller DNA av genotyp Ib (den vanligaste genotypen) från odlad BKV-virus. Två användare på varje plats testade varje reagenslot i 5 dagar. Två körningar (1 körning = 1 batch; 1 batch = 1 panel + 3 kontroller) utfördes varje dag och 3 replikat av varje panelprov utfördes för varje körning. Resultaten av utvärderingen sammanfattas i Tabell 26.

Tabell 26 Tillämpbar procentandel av den totala variansen (% TV), standardavvikelse (SD) för den totala precisionen och lognormal CV (%) för BKV-DNA-koncentrationen ($\log_{10}$ IU/ml) efter positivt panelprov

Förväntad BKV-DNA-koncentration ($\log_{10}$ IU/ml)	Observerat medelvärde ^a för BKV-DNA-koncentration ($\log_{10}$ IU/ml)	Antal tester ^b	Lot % TV ^c (CV %) ^d	Plats % TV ^c (CV %) ^d	Dag/användare % TV ^c (CV %) ^d	Omgång % TV ^c (CV %) ^d	Inom omgång % TV ^c (CV %) ^d	Total precision SD ^e	Total precision lognormal CV (%) ^d
1,81	1,74	270	9 % (20,63)	6 % (17,69)	0 % (0,00)	7 % (19,15)	78 % (68,05)	0,304	79,43
3,70	3,52	270	10 % (9,79)	10 % (9,57)	14 % (11,44)	25 % (15,16)	40 % (19,38)	0,131	30,91
4,70	4,51	270	3 % (4,42)	24 % (13,46)	0 % (0,00)	56 % (20,58)	17 % (11,27)	0,118	27,71
5,70	5,54	270	7 % (5,66)	28 % (11,50)	0 % (0,00)	40 % (13,85)	25 % (10,84)	0,094	21,94
7,70	7,62	269	4 % (3,27)	49 % (11,00)	0 % (0,00)	13 % (5,60)	34 % (9,10)	0,068	15,74

^a Beräknat med proceduren SAS MIXED.

^b Antal giltiga tester med detekterbar DNA-nivå.

^c % TV = Bidrag till den totala variansen i procent.

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

^e Beräknat med den totala variabiliteten från SAS MIXED-proceduren.

Obs! Tabellen inkluderar bara resultat med detekterbar DNA-nivå. SD = standardavvikelse. CV = variationskoefficient och BKV = BK-virus.

cobas® BKV visade godkänd klinisk reproducerbarhet vid koncentrationer genom det linjära intervallet. Dessutom detekterade systemet 100 % av $3 \times \text{LLoQ}$ -proverna. cobas® 6800 och cobas® 8800 Systems har båda en modulär utformning och visade ekvivalens vid användning av cobas® BKV. Alla uppskattade 95-procentiga konfidensgränser (CL) för skillnaden mellan 2 mätningar från samma person låg inom $\pm 0,84 \log_{10}$ IU/ml, vilket indikerar att analysen kan bedöma ändringar i BKV-DNA-nivåerna som kan tänkas vara kliniskt signifikanta.

Av de 270 giltiga testerna för de negativa panelproverna som utfördes på cobas® 6800/8800 Systems hade alla prover resultatet "Target Not Detected", och den procentuella överensstämmelsen för negativa resultat (NPA) var därför 100 % med ett 95 % exakt CI på 98,6 % till 100 %.

Prestanda för cobas® BKV för EDTA-plasmaprover

Den kliniska prestandan för cobas® BKV utvärderades ytterligare vid tre testplatser genom att mäta BKV-DNA-nivåer i kliniska prover (rena och spädda) från BKV-infekterade och ej infekterade patienter och artificiella EDTA-plasmaprover spikade med odlat BKV-virus, jämfört med ett etablerat laboratorieutvecklat nukleinsyratest (LDT) (jämförande BKV LDT-test). Av alla prover som testades med cobas® BKV och det jämförande BKV-testet var totalt 550 prover (217 rena och 303 spädda kliniska prover från 129 transplanterade personer och 30 artificiella prover) giltiga i båda analyserna och utvärderingsbara för analysen av klinisk överensstämmelse (Tabell 27).

Tabell 27 Analys av överensstämmelse mellan cobas® BKV och jämförande LDT-test på resultat av BKV-DNA-nivåer för alla prover

cobas® BKV (log ₁₀ IU/ml)	Jämförande BKV LDT-test (log ₁₀ IU/ml) Target Not Detected	Jämförande BKV LDT-test (log ₁₀ IU/ml) < LLoQ (< 2,3)	Jämförande BKV LDT-test (log ₁₀ IU/ml) 2,3 till < 3,0	Jämförande BKV LDT-test (log ₁₀ IU/ml) 3,0 till < 3,7	Jämförande BKV LDT-test (log ₁₀ IU/ml) 3,7 till 4,4	Jämförande BKV LDT-test (log ₁₀ IU/ml) > 4,4	Totalt
Target Not Detected	107	7	5	0	0	0	119
< LLoQ (< 2,3)	23	51	39	0	0	0	113
2,3 till < 3,0	0	3	40	62	1	0	106
3,0 till < 3,7	0	0	1	71	42	0	114
3,7 till 4,4	0	0	0	0	26	26	52
> 4,4	0	0	0	0	1	45	46
Totalt	130	61	85	133	70	71	550
Kolumnöverensstämmelse (%)	(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 % CI (Score)) ^a	(97,1 %, 100 %)	(94,1 %, 100,0 %)	(87,0 %, 97,5 %)	(97,2 %, 100,0 %)	(92,3 %, 99,7 %)	(94,9 %, 100,0 %)	-

Obs! CI = konfidensintervall; LLoQ = nedre kvantifieringsgräns för jämförande BKV LDT-test (200 IU/ml = 2,3 log₁₀ IU/ml). Standardavvikelse för jämförande BKV LDT-test uppskattad vid 0,37 log₁₀ IU/ml (från en studie av analytisk precision för BKV LDT-test utförd vid Indiana University). Analytkoncentration på 3,0 log₁₀ IU/ml representerade LLoQ + 2σ, 3,7 log₁₀ IU/ml representerade LLoQ + 4σ och 4,4 log₁₀ IU/ml representerade LLoQ + 6σ med ett intervall på 2σ. De parade prover som var utvärderingsbara för analys av klinisk överensstämmelse inkluderades i den här tabellen.

^a Antaget oberoende mellan alla prover.

Avvikande resultat definierades som resultat som är mer än en cell bort från diagonalen (visas med skuggning). För överensstämmelse med kolumnen Target Not Detected (TND) by LDT kombinerades cellerna cobas® BKV Target Not Detected och < LLoQ (< 2,3). Principen för att lägga till de intilliggande cellerna < LLoQ och TND för TND-kolumnen är att skillnaden mellan ett TND-resultat och ett < LLoQ-resultat inte är kliniskt meningsfull och att de analytiskt sett ligger vid den nedre änden av mätintervallet, vilket kan påverkas av slumpmässiga fel.

Av de 43 BKV-DNA-negativa prover som samlades in för uppskattning av NPA med cobas® BKV var samtliga 43 prover negativa med cobas® BKV, och därför var NPA 100 % med ett 95 % exakt CI på 91,8 % till 100 %.

Överensstämmelse mellan cobas® BKV och det jämförande BKV LDT-testet utvärderades även med olika kliniska tröskelvärden (Tabell 28).

Tabell 28 Sammanfattning av överensstämmelse mellan **cobas®** BKV och jämförande BKV LDT-test med olika tröskelvärden för alla prover

Tröskelvärden*	Procentuell överensstämmelse < tröskelvärde	Procentuell överensstämmelse ≥ tröskelvärde
	95 % CI (n/N)	95 % CI (n/N)
Target Not Detected	82,3 % (107/130) (74,8 %, 87,9 %)	97,1 % (408/420) (95,1 %, 98,4 %)
LLoQ (2,3 log ₁₀ 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 %)

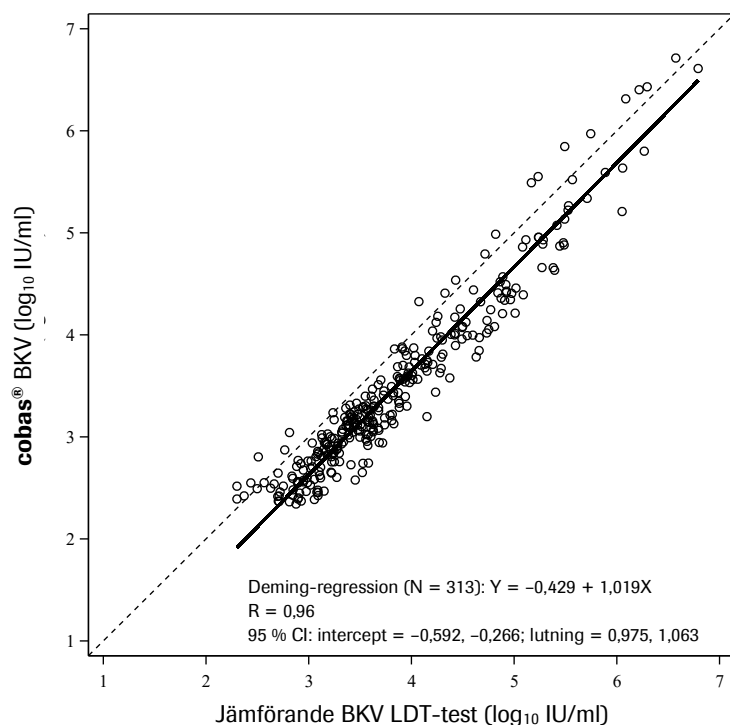
Obs! Prover med ett "Target Not Detected"-resultat kategoriserades som "< tröskelvärde i IU/ml".

LLoQ = nedre kvantifieringsgräns för jämförande BKV LDT-test (200 IU/ml = 2,3 log₁₀ IU/ml).

95-procentigt konfidensintervall (CI) beräknat med Score-metoden med antaget oberoende mellan alla prover.

* Tröskelvärden på 1000 IU/ml = 3,0 log₁₀ IU/ml och 10 000 IU/ml = 4,0 log₁₀ IU/ml.

Av alla prover som testades med **cobas®** BKV och som var BKV-positiva med det jämförande BKV-testet var totalt 313 prover (133 rena och 159 spädda kliniska prover från 68 transplanterade personer och 21 artificiella prover) utvärderingsbara för analysen av klinisk överensstämmelse på de tre testplatserna (Bild 9).

Bild 9 Korrelation mellan **cobas®** BKV och jämförande BKV LDT-test för alla prover: Linjärt sambandsdiagram över Deming-regression för DNA-nivåer (log₁₀ IU/ml)

Ytterligare analys med bias-sambandsdiagram av skillnader i DNA-nivåer indikerade en systematisk skillnad mellan båda analyserna som är konstant över det överlappande linjära intervallet. Det 95-procentiga konfidensintervallet för den anpassade kurvans intercept i bias-sambandsdiagrammen var $-0,404$ till $-0,168$, vilket är inom $\pm 0,74 \log_{10}$ IU/ml (± 2 gånger standardavvikelsen för analytisk precision för det jämförande BKV LDT-testet). Vidare uppskattades den genomsnittliga biasen till $-0,357 \log_{10}$ IU/ml och med ekvationen för den anpassade linjen i bias-sambandsdiagrammen var den systematiska skillnaden mellan båda analyserna $-0,343 \log_{10}$ IU/ml och $-0,362 \log_{10}$ IU/ml för prover med DNA-nivåer vid 3 respektive 4 $\log_{10}$ IU/ml.

Reproducerbarhet för cobas® BKV för stabiliserade urinprover

Reproducerbarheten för cobas® BKV utvärderades med faktorer (reagenslot, testplats, provomgång och testdagar) som kan påverka de rapporterade resultaten i rutinmässig klinisk testning. Utvärderingen gjordes på 3 testplatser med 3 reagensloter, med en panel med positiva och negativa prover med totalt 270 tester per koncentration (kontroller ej inkluderade). Panelerna utgjordes av urin som stabiliserats med cobas® PCR Media som bekräftats vara negativ för BKV-DNA med ett releaseprotokoll för urin-nukleinsyratetest (NAT) och spikats med en internationell WHO-standard för BKV, eller DNA av genotyp Ia från odlad BKV-virus. Två användare på varje plats testade varje reagenslot i 5 dagar. Två körningar (1 körning = 1 batch; 1 batch = 1 panel + 3 kontroller) utfördes varje dag och 3 replikat av varje panelprov utfördes för varje körning. Resultaten av utvärderingen sammanfattas i Tabell 29.

Tabell 29 Tillämpbar procentandel av den totala variansen (% TV), standardavvikelse (SD) för den totala precisionen och lognormal CV (%) för BKV-DNA-koncentrationen ($\log_{10}$ IU/ml) efter positivt panelprov (stabiliserat urin)

Förväntad BKV-DNA-koncentration	Observerat medelvärde ^a för BKV-DNA-koncentration	Antal tester ^b	Lot % TV ^c (CV %) ^d	Plats % TV ^c (CV %) ^d	Dag/ användare % TV ^c (CV %) ^d	Omgång % TV ^c (CV %) ^d	Inom omgång % TV ^c (CV %) ^d	Total precision SD ^e	Total precision 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

Obs! Tabellen inkluderar bara resultat med detekterbar DNA-nivå. SD = standardavvikelse; CV = variationskoefficient i procent; BKV = BK-virus.

^a Beräknat med proceduren SAS MIXED.

^b Antal giltiga tester med detekterbar DNA-nivå.

^c % TV = Bidrag till den totala variansen i procent.

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

^e Beräknat med den totala variabiliteten från SAS MIXED-proceduren.

cobas® BKV visade godkänd klinisk reproducerbarhet vid koncentrationer genom det linjära intervallet. Dessutom detekterade systemet 100 % av $3 \times \text{LLoQ}$ -proverna. cobas® 6800 och cobas® 8800 Systems har båda en modulär utformning och visade ekvivalens vid användning av cobas® BKV. Alla uppskattade 95-procentiga konfidensgränser (CL) för skillnaden mellan 2 mätningar från samma person låg inom $\pm 0,20 \log_{10}$ IU/ml, vilket indikerar att analysen kan

bedöma ändringar i BKV-DNA-nivåerna som kan tänkas vara kliniskt signifikanta. Systemet visade 99,26 % procentuell överensstämmelse för negativa resultat med ett CI på 97,3–99,9 %. Av de 270 giltiga testerna för de negativa panelproverna visade 2 prover (0,74 %) en DNA-nivå med < LLoQ-positivitet. Ytterligare undersökning av de här resultaten visade att de inte var associerade med ett särskilt instrument/plats eller reagenslot. Ytterligare DNA-sekvensering bekräftade förekomst av BKV. De identifierade BKV-sekvenserna skiljde sig från de som fanns i den positiva kontrollen och BKV-stammen som användes för panelberedningen, med undantag för kontamination under panelberedningen och indikering av virusspår i ett av de 25 poolade urinproverna som användes för beredningen av den negativa panelen.

Prestanda för cobas® BKV för stabiliserade urinprover

Den kliniska prestandan för cobas® BKV utvärderades ytterligare vid tre testplatser genom att mäta BKV-DNA-nivåer i kliniska urinprover från BKV-infekterade och ej infekterade patienter som stabiliserats i cobas® PCR Media, jämfört med ett etablerat LDT-test (jämförande BKV LDT-test).

Av alla prover som testades med cobas® BKV och det jämförande BKV-testet var totalt 308 rena urinprover stabiliserade i cobas® PCR Media från 84 transplanterade personer giltiga i båda analyserna och utvärderingsbara för analysen av klinisk överensstämmelse (Tabell 30).

Tabell 30 Analys av överensstämmelse mellan resultaten från cobas® BKV och det jämförande LDT-testet av BKV-DNA-nivåer ($\log_{10}$ IU/ml) för alla prover (stabiliserat urin)

cobas® BKV ($\log_{10}$ IU/ml)	Jämförande BKV LDT-test Target Not Detected	Jämförande BKV LDT-test < LLoQ (< 3,0)	Jämförande BKV LDT-test 3,0 till < 3,3	Jämförande BKV LDT-test 3,3 till < 3,6	Jämförande BKV LDT-test 3,6 till 3,9	Jämförande BKV LDT-test > 3,9	Totalt
Target Not Detected	62	6	0	0	0	0	68
< LLoQ (< 3,0)	4	22	0	0	0	1	27
3,0 till < 3,3	0	2	0	0	0	0	2
3,3 till < 3,6	0	0	6	3	0	0	9
3,6 till 3,9	0	0	2	11	10	0	23
> 3,9	0	0	0	2	8	169	179
Totalt	66	30	8	16	18	170	308
Kolumnöverens stämmelse (%)	(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 % CI (Score)) ^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 %)	-

Obs! CI = konfidensintervall; LLoQ = nedre kvantifieringsgräns för jämförande BKV LDT-test (1000 IU/ml = 3,0 $\log_{10}$ IU/ml); LDT = laboratorieutvecklat test; BKV = BK-virus.

Standardavvikelse för jämförande BKV LDT-test uppskattad vid 0,15 $\log_{10}$ IU/ml (jämförande BKV LDT-valideringsstudie).

Analytkoncentration på 3,3 $\log_{10}$ IU/ml representerade LLoQ + 2 σ , 3,6 $\log_{10}$ IU/ml representerade LLoQ + 4 σ och 3,9 $\log_{10}$ IU/ml representerade LLoQ + 6 σ med ett intervall på 2 σ .

De parade prover som var utvärderingsbara för analys av klinisk överensstämmelse inkluderades i den här tabellen.

^a Antaget oberoende mellan alla prover.

DNA-sekvensering på representativa prover från personer med resultat för DNA-nivå med en konsekvent offset på mer än 1 log₁₀ IU/ml DNA visade inga sekvens-felmatchningar för primer- eller probmål för **cobas®** BKV. Avvikande resultat definierades som resultat som är mer än en cell bort från diagonalen (visas med skuggning). För överensstämmelse med kolumnen Target Not Detected (TND) by LDT kombinerades cellerna **cobas®** BKV Target Not Detected och < LLoQ (< 3,0). Principen för att lägga till de intilliggande cellerna < LLoQ och TND för TND-kolumnen är att skillnaden mellan ett TND-resultat och ett < LLoQ-resultat inte är kliniskt meningsfull och att de analytiskt sett ligger vid den nedre änden av mätintervallet, vilket kan påverkas av slumpmässiga fel. Av de 66 BKV-DNA-negativa prover som samlades in för uppskattning av NPA med **cobas®** BKV gav 61 prover giltiga resultat, och samtliga 61 prover var negativa med **cobas®** BKV, och därför var NPA 100 % med ett 95 % exakt CI på 94,1 % till 100 %.

Överensstämmelse mellan **cobas®** BKV och det jämförande BKV LDT-testet utvärderades även med olika kliniska tröskelvärden (Tabell 31).

Tabell 31 Sammanfattning av överensstämmelse mellan **cobas®** BKV och jämförande BKV LDT-test med olika tröskelvärden för alla prover (stabiliserat urin)

Tröskelvärde*	Procentuell överensstämmelse < tröskelvärde 95 % CI (n/N)	Procentuell överensstämmelse ≥ tröskelvärde 95 % CI (n/N)
Target Not Detected	93,9 % (62/66) (85,4 %, 97,6 %)	97,5 % (236/242) (94,7 %, 98,9 %)
LLoQ (3,0 log ₁₀ 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 %)

Obs! Prover med ett "Target Not Detected"-resultat kategoriserades som "< tröskelvärde i IU/ml".

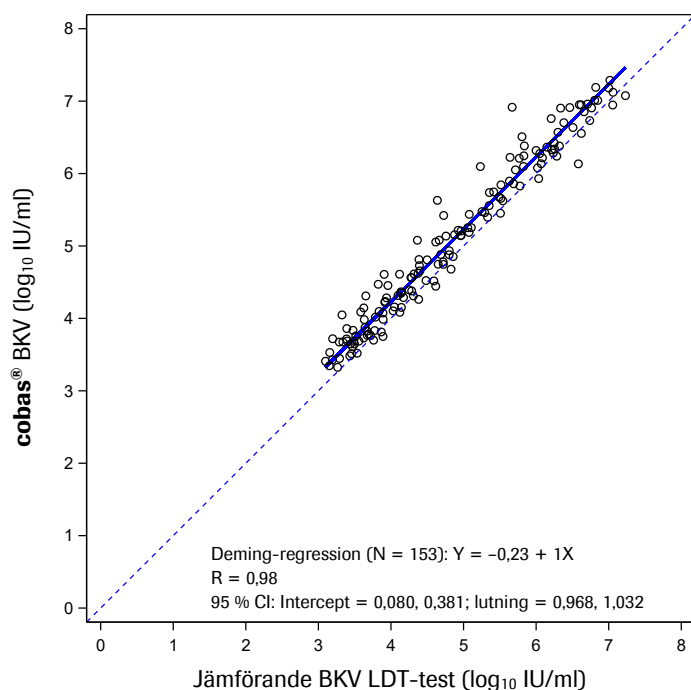
LLoQ = nedre kvantifieringsgräns för jämförande BKV LDT-test (1000 IU/ml = 3,0 log₁₀ IU/ml).

95-procentigt konfidensintervall (CI) beräknat med Score-metoden med antaget oberoende mellan alla prover.

* Tröskelvärden på 10 000 IU/ml = 4,0 log₁₀ IU/ml och 10 000 000 IU/ml = 7,0 log₁₀ IU/ml.

Av alla prover som testades med **cobas®** BKV och som var BKV-positiva med det jämförande BKV-testet var totalt 153 rena urinprover stabiliserade i **cobas®** PCR Media från 55 transplanterade personer utvärderingsbara för korrelationsanalys på de tre testplatserna (Bild 10).

Bild 10 Korrelation mellan **cobas®** BKV och jämförande BKV LDT-test för alla prover: Linjärt sambandsdiagram över Deming-regression för DNA-nivåer ($\log_{10}$ IU/ml) (stabiliserat urin)



Ytterligare analys med bias-sambandsdiagram av skillnader i DNA-nivåer indikerade en systematisk skillnad mellan båda analyserna som är konstant över det överlappande linjära intervallet. Det 95-procentiga konfidsintervall för den anpassade kurvans intercept i bias-sambandsdiagrammen var 0,168 till 0,488, vilket är inom $\pm 0,5 \log_{10}$ IU/ml. Vidare uppskattades den genomsnittliga biasen till 0,231 $\log_{10}$ IU/ml och med ekvationen för den anpassade linjen i bias-sambandsdiagrammen var den systematiska skillnaden mellan båda analyserna 0,248 $\log_{10}$ IU/ml och 0,188 $\log_{10}$ IU/ml för prover med DNA-nivåer vid 4 $\log_{10}$ IU/ml respektive 7 $\log_{10}$ IU/ml.

Systemekvivalens/systemjämförelse

Systemekvivalensen för **cobas®** 5800, **cobas®** 6800 och **cobas®** 8800 Systems påvisades genom studier av prestandan. Resultaten som presenteras i bruksanvisningen ger stöd för motsvarande prestanda för alla system.

Ytterligare information

Viktiga testegenskaper

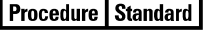
Provtyp	EDTA-plasma	Urin som stabiliserats i cobas® PCR Media
Minsta mängd prov som krävs	375 µl*	575 µl*
Provbearbetningsvolym	200 µl	400 µl
Analytisk sensitivitet	21,5 IU/ml (tvåsidigt 95-procentigt konfidensintervall: 16,3–32,4 IU/ml)	12,2 IU/ml (tvåsidigt 95-procentigt konfidensintervall: 9,2–18,3 IU/ml)
Linjärt intervall	21,5 IU/ml till 1E+08 IU/ml	200 IU/ml till 1E+08 IU/ml
Specificitet	100 %	100 %
Detekterade subtyper	BKV-subtyperna I (med undergrupperna Ia, Ib och Ic), II, III och IV	

* En dödvolum på 175 µl identifierades för **cobas omni**-sekundärrör. Andra rör som används för testning kan ha olika dödvolum och kräva större eller mindre minimivolum. Kontakta Roche kundsupport om du vill ha mer information.

Symboler

Följande symboler används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter.

Tabell 32 Symboler som används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter

 Age/DOB	Ålder eller födelsedatum		Produkt ej avsedd för patientnära testning	 QS IU/PCR	QS IU per PCR-reaktion, använd antalet internationella enheter (IU) för QS per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.
 SW	Stödprogramvara		Produkt ej avsedd för självtestning	 SN	Serienummer
 Assigned Range [copies/mL]	Tilldelat intervall (kopior/ml)		Distributör (Obs! Det tillämpliga landet/regionen kan vara betecknat nedanför symbolen.)	 Site	Plats
 Assigned Range [IU/mL]	Tilldelat intervall (IU/ml)		Får ej återanvändas	 Procedure Standard	Standardprocedur
 EC REP	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen		Kvinna	 STERILE EO	Steriliserad med etylenoxid
 BARCODE	Streckkodsdatablad		Endast för IVD-egenskapsutvärdering		Förvaras mörkt
 LOT	Lotnummer	 GTIN	GTIN-nummer		Temperaturgräns
	Biologisk risk		Importör	 TDF	Testdefinitionsfil
 REF	Katalognummer	 IVD	Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik		Denna sida upp
	CE-märkning om överensstämmelse: den här enheten uppfyller alla tillämpliga krav för CE-märkning av en medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	 LLR	Lägre gräns för tilldelat intervall	 Procedure UltraSensitive	Ultrasetitiv procedur
 Collect Date	Provtagningsdatum		Man	 UDI	Unikt enhets-ID
	Se bruksanvisningen		Tillverkare	 ULR	Övre gräns för tilldelat intervall
	Innehåller tillräckligt med reagens för <n> analyser	 CONTROL -	Negativ kontroll	 Urine Fill Line	Urinfyllnadsnivå
 CONTENT	Utrustningen innehåller		Icke-steril	 Rx Only	Endast USA: Särskilda nationella regler kan gälla för försäljning av den här enheten.
 CONTROL	Kontroll		Patientens namn		Utgångsdatum
	Tillverkningsdatum		Patientnummer		
	Produkt för patientnära testning		Öppna här		
	Produkt för självtestning	 CONTROL +	Positiv kontroll		
		 QS copies / PCR	QS-kopior per PCR-reaktion, använd antalet QS-kopior per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.		

Teknisk support

Om du behöver teknisk support kontaktar du Roche kundsupport via:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Tillverkare och importör

Tabell 33 Tillverkare och importör



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

Made in USA (FTC-standard)



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Varumärken och patent

Se <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referenser

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

Revidering av dokumentet

Information om revidering av dokumentet	
Doc Rev. 1.0 03/2022	Första publicering.

Sammanfattningen av säkerhets- och prestandarapporten finns på följande länk: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.