

## **cobas<sup>®</sup> BKV**

---

### **Test quantitatif des acides nucléiques à utiliser avec les systèmes cobas<sup>®</sup> 5800/6800/8800**

Pour une utilisation en diagnostic *in vitro*

**cobas<sup>®</sup> BKV**

P/N: 09040960190

**À utiliser avec le système cobas<sup>®</sup> 5800**

**cobas<sup>®</sup> EBV/BKV Control Kit**

P/N: 09040951190

**cobas<sup>®</sup> Buffer Negative Control Kit**

P/N: 09051953190

**À utiliser avec les systèmes cobas<sup>®</sup> 6800/8800**

**cobas<sup>®</sup> EBV/BKV Control Kit**

P/N: 08688214190 ou  
P/N: 09040951190

**cobas<sup>®</sup> Buffer Negative Control Kit**

P/N: 07002238190 ou  
P/N: 09051953190

# Table des matières

|                                                                                                                                                                         |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Usage prévu .....</b>                                                                                                                                                | <b>5</b>  |
| <b>Résumé et explication du test.....</b>                                                                                                                               | <b>5</b>  |
| <b>Réactifs et matériel .....</b>                                                                                                                                       | <b>8</b>  |
| Réactifs et contrôles <b>cobas®</b> BKV .....                                                                                                                           | 8         |
| Réactifs <b>cobas® omni</b> pour préparation des échantillons .....                                                                                                     | 11        |
| Conditions de manipulation et de stockage des réactifs .....                                                                                                            | 12        |
| Conditions de manipulation des réactifs pour le système <b>cobas®</b> 5800 ou les systèmes <b>cobas®</b> 6800/8800.....                                                 | 12        |
| Matériel supplémentaire nécessaire pour les systèmes <b>cobas®</b> 5800/6800/8800.....                                                                                  | 13        |
| Instruments et logiciels nécessaires .....                                                                                                                              | 15        |
| <b>Précautions et conditions de manipulation .....</b>                                                                                                                  | <b>16</b> |
| Avertissements et précautions.....                                                                                                                                      | 16        |
| Manipulation des réactifs.....                                                                                                                                          | 17        |
| Bonnes pratiques de laboratoire.....                                                                                                                                    | 17        |
| <b>Prélèvement, transport et conservation des échantillons .....</b>                                                                                                    | <b>18</b> |
| Échantillons de plasma EDTA.....                                                                                                                                        | 18        |
| Échantillons urinaires.....                                                                                                                                             | 19        |
| <b>Instructions d'utilisation .....</b>                                                                                                                                 | <b>20</b> |
| Notes de procédure .....                                                                                                                                                | 20        |
| Exécution du test <b>cobas®</b> BKV sur les systèmes <b>cobas®</b> 5800/6800/8800.....                                                                                  | 20        |
| <b>Résultats .....</b>                                                                                                                                                  | <b>23</b> |
| Contrôle qualité et validité des résultats sur le système <b>cobas®</b> 5800 et les systèmes <b>cobas®</b> 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure..... | 23        |
| Contrôle qualité et validité des résultats sur les systèmes <b>cobas®</b> 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4 .....                                               | 23        |
| Alertes de contrôle sur les systèmes <b>cobas®</b> 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4.....                                                                       | 24        |
| Interprétation des résultats pour les systèmes <b>cobas®</b> 5800/6800/8800 .....                                                                                       | 24        |

|                                                                                                                                                             |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Interprétation des résultats sur le système <b>cobas</b> ® 5800 et les systèmes <b>cobas</b> ® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure..... | 25        |
| Interprétation des résultats sur les systèmes <b>cobas</b> ® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4.....                                                 | 25        |
| Limitations procédurales.....                                                                                                                               | 26        |
| <b>Évaluation des performances non cliniques .....</b>                                                                                                      | <b>27</b> |
| Équivalence des systèmes .....                                                                                                                              | 27        |
| Principales caractéristiques de performance pour le type d'échantillon Plasma EDTA.....                                                                     | 27        |
| Limite de détection (LoD) pour le standard international de l'OMS.....                                                                                      | 27        |
| Domaine de linéarité .....                                                                                                                                  | 28        |
| Précision intra-laboratoire .....                                                                                                                           | 29        |
| Vérification de sous-type .....                                                                                                                             | 30        |
| Spécificité .....                                                                                                                                           | 30        |
| Spécificité analytique.....                                                                                                                                 | 30        |
| Spécificité analytique - substances interférentes .....                                                                                                     | 32        |
| Corrélation de la méthode .....                                                                                                                             | 32        |
| Échec complet du système.....                                                                                                                               | 33        |
| Contamination croisée.....                                                                                                                                  | 33        |
| Principales caractéristiques de performance pour le type d'échantillon urine .....                                                                          | 34        |
| Limite de détection (LoD) pour le standard international de l'OMS.....                                                                                      | 34        |
| Domaine de linéarité .....                                                                                                                                  | 35        |
| Précision intra-laboratoire .....                                                                                                                           | 36        |
| Vérification de sous-type .....                                                                                                                             | 37        |
| Spécificité .....                                                                                                                                           | 37        |
| Spécificité analytique.....                                                                                                                                 | 37        |
| Spécificité analytique - substances interférentes .....                                                                                                     | 38        |
| Corrélation de la méthode .....                                                                                                                             | 40        |
| Contamination croisée.....                                                                                                                                  | 40        |
| <b>Évaluation des performances cliniques .....</b>                                                                                                          | <b>41</b> |
| Reproductibilité du test <b>cobas</b> ® BKV pour les échantillons de plasma EDTA.....                                                                       | 41        |
| Performance du test <b>cobas</b> ® BKV pour les échantillons de plasma EDTA .....                                                                           | 42        |

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| Reproductibilité du test cobas® BKV pour les échantillons d'urine stabilisée..... | 44 |
| Performance du test cobas® BKV pour les échantillons d'urine stabilisée .....     | 46 |

## **Informations supplémentaires .....48**

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| Caractéristiques clés du test .....   | 48 |
| Symboles.....                         | 49 |
| Assistance technique.....             | 50 |
| Fabricant et importateur .....        | 50 |
| Marques commerciales et brevets ..... | 50 |
| Droit d'auteur.....                   | 50 |
| Références.....                       | 51 |
| Révision du document.....             | 52 |

## Usage prévu

Le test **cobas**® BKV est un test *in vitro* d'amplification des acides nucléiques pour le dosage quantitatif de l'ADN du virus BK (BKV) dans le plasma EDTA humain et dans l'urine stabilisée dans le **cobas**® PCR Media.

Dans le plasma EDTA, le test **cobas**® BKV est destiné à contribuer au diagnostic et au traitement du BKV chez les patients receveurs de greffe. Pour les patients sous surveillance du BKV dans le plasma EDTA, des mesures d'ADN en série peuvent être effectuées pour indiquer le besoin d'éventuels changements de traitement et pour évaluer la réponse virale au traitement.

Dans l'urine stabilisée dans le **cobas**® PCR Media, le test **cobas**® BKV est destiné à contribuer au diagnostic et au traitement du BKV chez les patients receveurs de greffe.

Les résultats du test **cobas**® BKV doivent être interprétés en tenant compte de tous les résultats cliniques et de laboratoire pertinents.

Le test **cobas**® BKV n'est pas destiné au dépistage dans le sang ou les produits sanguins.

## Résumé et explication du test

### Contexte

Les receveurs de greffe encourent un risque accru de nombreuses infections virales et bactériennes qui sont plus susceptibles de provoquer de graves effets néfastes sur la santé de la population des receveurs de greffe que sur celle de la population générale en bonne santé. Ce risque accru est en partie dû aux fonctions diminuées du système immunitaire en raison des médicaments immunosuppresseurs que prennent les patients receveurs de greffe pour réduire la probabilité de rejet du greffon.<sup>1,2</sup>

Le virus BK (BKV) est un petit virus (~5 kb) à acide désoxyribonucléique (ADN) non enveloppé appartenant à la famille des polyomavirus. Il existe quatre grands sous-types de BKV, dont le sous-type I est le plus souvent détecté (80 %), suivi du sous-type IV (15 %).<sup>3</sup> La séroprévalence du BKV est > 80 % dans la population générale adulte en bonne santé.<sup>4</sup> Chez les personnes immunocompétentes, le BKV n'est pas associé à une pathologie significative. Cependant, les infections par le BKV peuvent provoquer de graves maladies cliniques chez les personnes immunodéprimées, y compris les receveurs de greffe.<sup>5</sup>

Les infections par le BKV se manifestent le plus fréquemment au niveau des reins et du tractus urinaire. Après l'infection primaire, le virus reste latent dans l'épithélium des tubules rénaux et l'épithélium urétéral et peut être réactivé chez les individus immunodéprimés. Les patients receveurs de transplantation rénale présentent un risque plus élevé de complications associées au BKV que les receveurs d'autres types de greffe, y compris la néphropathie à polyomavirus (NPV) et la sténose urétérale. La NPV touche jusqu'à 10 % des receveurs de transplantation rénale et la transplantation du greffon échouera chez environ 50 % des patients affectés par la NPV. De plus, environ 3 % des receveurs de transplantation rénale développent une sténose urétérale associée au BKV.<sup>5</sup> Les receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) présentent également des complications associées au BKV plus fréquemment, le plus souvent sous forme de cystites hémorragiques (CH). Entre 5 et 15 % des patients receveurs de greffe de CSH présentent une CH.<sup>1</sup>

Les directives recommandent une surveillance régulière du BKV chez les patients receveurs de transplantation rénale jusqu'à 5 ans après la transplantation.<sup>6</sup> Cette approche de surveillance permet d'identifier 80 à 90 % des patients présentant un risque de NPV. L'analyse du plasma pour la virémie BKV est recommandée dans la stratégie d'identification des patients présentant un risque accru de NPV, soit comme test de confirmation pour les patients chez lesquels la virurie BKV a été détectée, soit comme modalité de test primaire pour le dépistage de routine.<sup>6</sup> Il n'existe actuellement aucune recommandation pour la surveillance de routine du BKV chez les patients receveurs de greffe de CSH et le test est recommandé en premier lieu pour l'évaluation des patients présentant une hématurie et les symptômes cliniques d'une cystite. Cependant, un niveau d'ADN du BKV supérieur à 10 000 copies/mL est associé à un risque accru de CH chez les patients receveurs de greffe.<sup>7</sup>

Pour les patients receveurs de transplantation rénale présentant une élévation persistante des niveaux d'ADN du BKV plasmatique, souvent définie comme une mesure supérieure à 10 000 copies/mL, l'analyse du BKV dans le plasma est recommandée toutes les 1 à 2 semaines jusqu'à ce que le niveau d'ADN soit indétectable pour deux mesures consécutives.

De nombreux tests de laboratoire pour le dosage quantitatif du BKV ne sont pas standardisés, ce qui entraîne une variabilité inter-laboratoire et inter-analyse élevée.<sup>6,7</sup> En outre, les constituants de l'urine peuvent provoquer une aggrégation de BKV, ce qui peut également avoir un impact sur la variabilité quantitative.<sup>8,9</sup> Une évaluation formelle de la reproductibilité et de la validité des niveaux d'ADN du BKV est essentielle pour assurer des résultats cohérents (quel que soit le laboratoire dans lequel l'analyse a été réalisée) pour le traitement clinique des patients présentant des maladies liées au BKV.

Bien que le seuil viral exact médicalement pertinent soit toujours sujet à débat en raison de la variabilité inter-analyse, le concept de seuil critique semble valide et a été rapporté dans des études de l'histoire naturelle démontrant que les niveaux élevés d'ADN du BKV sont associées à un risque accru de développement de NPV et de CH.<sup>6,7</sup>

## **Pourquoi employer les tests des acides nucléiques ?**

La sérologie du polyomavirus n'est pas utilisée habituellement dans les environnements médicaux ; elle n'a de valeur que pour déterminer si un patient a déjà été infecté par le BKV et s'il présente un risque de réactivation. Les méthodes de culture du virus demandent un délai d'exécution long et, comme elles sont semi-quantitatives, leur utilisation est limitée chez les patients immunodéprimés pour lesquels de faibles niveaux de virus sont fréquents. La détection directe de l'ADN du BKV par les méthodes de PCR en temps réel peut offrir un large domaine de linéarité, une précision élevée ainsi qu'une sensibilité et une spécificité optimales lors de l'utilisation chez les patients receveurs de greffe.

## **Explication du test**

Le test **cobas®** BKV est un test quantitatif exécuté sur les systèmes **cobas®** 5800/6800/8800. Le test **cobas®** BKV permet la détection et la quantification de l'ADN du BKV dans le plasma EDTA et dans l'urine stabilisée dans le **cobas®** PCR Media de patients infectés. Le niveau d'ADN du BKV est quantifié par rapport à un standard de quantification d'ADN non-BKV (DNA-QS), qui est introduit dans chaque échantillon lors du traitement des échantillons. Le DNA-QS permet également de surveiller l'ensemble du processus de préparation des échantillons et d'amplification par PCR. En outre, le test utilise trois contrôles : un contrôle positif de titre élevé, un contrôle positif de titre faible et un contrôle négatif. Les contrôles externes positif haut et positif bas sont obtenus par dilution à partir du matériel de stock avec un titre conforme au 1<sup>er</sup> standard international de l'OMS pour le BKV (code NIBSC : 14/212). Chaque lot de kits d'amplification/de détection est calibré conformément au 1<sup>er</sup> standard international de l'OMS pour le BKV (code NIBSC : 14/212).

## Principes de la procédure

Le test **cobas**® BKV repose sur la préparation entièrement automatisée des échantillons (extraction et purification des acides nucléiques) suivie de l'amplification par PCR et de la détection. Le système **cobas**® 5800 est conçu sous la forme d'un instrument intégré. Les systèmes **cobas**® 6800/8800 sont composés du module de chargement des échantillons, du module de transfert, du module de traitement et du module analytique. La gestion automatisée des données est réalisée par le logiciel du système **cobas**® 5800 ou du système **cobas**® 6800/8800, lequel attribue à chaque test l'un des résultats suivants : cible non détectée, ADN du BKV détecté < LLoQ (limite de quantification inférieure), ADN du BKV détecté > ULoQ (limite de quantification supérieure) ou valeur dans le domaine de linéarité  $LLoQ < x < ULoQ$ . Les résultats peuvent être consultés directement sur l'écran du système, exportés ou imprimés sous forme de rapports.

Les acides nucléiques des échantillons de patient et des molécules de DNA-QS lambda ajoutées sont extraits simultanément. L'acide nucléique viral est libéré par l'ajout de protéinase et de réactif de lyse à l'échantillon. L'acide nucléique libéré se lie à la surface des particules magnétiques de verre (silice) ajoutées. Les substances non liées et les impuretés, telles que les protéines dénaturées, les débris cellulaires et les inhibiteurs potentiels de PCR, sont éliminées lors d'étapes suivantes utilisant des réactifs de lavage, et l'acide nucléique purifié est séparé des particules de verre à l'aide d'un tampon d'élution à température élevée.

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible dans l'échantillon est effectuée à l'aide d'une approche double-cible spécifique au virus dans des régions hautement conservées du BKV, situées dans la région de l'antigène petit t du BKV et dans la région VP2 du BKV. L'amplification sélective du DNA-QS est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques à la séquence, sélectionnées de manière à ne présenter aucune homologie avec le génome du BKV. Une enzyme ADN polymérase thermostable est utilisée pour l'amplification. Les séquences cibles et DNA-QS sont amplifiées simultanément à l'aide d'un profil d'amplification par PCR universel composé de paliers de température et d'un nombre de cycles prédéfinis. Le master mix comprend de la désoxyuridine triphosphate (dUTP) à la place de la désoxythymidine triphosphate (dTTP), incorporée dans l'ADN nouvellement synthétisé (amplicon).<sup>10-12</sup> Tout amplicon contaminant provenant de runs de PCR précédents est éliminé par l'enzyme AmpErase, laquelle est incluse dans le mélange PCR, lorsqu'il est chauffé au cours de la première étape de thermocyclage. Toutefois, les amplicons nouvellement formés ne sont pas éliminés, car l'enzyme AmpErase est désactivée une fois exposée à une température supérieure à 55 °C.

Le master mix de **cobas**® BKV contient deux sondes de détection spécifiques aux séquences cibles de BKV et une sonde spécifique au DNA-QS. Les sondes sont marquées au moyen de fluorophores rapporteurs spécifiques des cibles permettant la détection simultanée de cible de BKV et de DNA-QS dans deux canaux cibles différents.<sup>13, 14</sup> Le signal fluorescent des sondes intactes est supprimé par un fluorophore quencher. Lors de l'étape d'amplification par PCR, l'hybridation de la sonde aux matrices d'ADN monocaténaire spécifiques entraîne un clivage par l'activité nucléase 5' à 3' de l'ADN polymérase, ce qui conduit à une séparation du fluorophore rapporteur et du fluorophore quencher et à la génération d'un signal fluorescent. À chaque cycle PCR, des quantités croissantes de sondes clivées sont générées et le signal cumulatif du fluorophore rapporteur est intensifié simultanément. La détection et la discrimination en temps réel des produits PCR sont effectuées en mesurant la fluorescence des fluorophores rapporteurs libérés pour les cibles virales et le DNA-QS.

# Réactifs et matériel

## Réactifs et contrôles cobas® BKV

Le matériel fourni pour le test cobas® BKV est décrit dans le Tableau 1. Le matériel nécessaire mais non fourni est décrit du Tableau 2 au Tableau 4 et du Tableau 8 au Tableau 10.

Tout réactif ou contrôle non ouvert doit être stocké conformément aux recommandations décrites du Tableau 1 au Tableau 4.

**Tableau 1** cobas® BKV

### cobas® BKV

Conserver à 2-8 °C

Cassette de 192 tests (P/N 09040960190)

| Composants du kit                                | Ingrédients du réactif                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Quantité par kit<br>192 tests |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| <b>Solution de protéinase (PASE)</b>             | Tampon Tris, < 0,05 % EDTA, chlorure de calcium, acétate de calcium, 8 % de protéinase, glycérol<br><br>EUH210 : Fiche de sécurité disponible sur demande.<br>EUH208 : Contient de la subtilisine de <i>Bacillus subtilis</i> . Peut produire une réaction allergique.                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 22,3 mL                       |
| <b>Standard de quantification d'ADN (DNA QS)</b> | Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, < 0,001 % de construction d'ADN non-BKV contenant un site de liaison aux amorces non-BKV et un site unique de liaison à la sonde (ADN non infectieux), < 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique), < 0,1 % d'azoture de sodium                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 21,2 mL                       |
| <b>Tampon d'élution (EB)</b>                     | Tampon Tris, 0,2 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 21,2 mL                       |
| <b>Réactif 1 de master mix (MMX-R1)</b>          | Acétate de manganèse, hydroxyde de potassium, < 0,1 % d'azoture de sodium                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 7,5 mL                        |
| <b>Réactif 2 du master mix BKV (BKV MMX-R2)</b>  | Tampon de tricine, acétate de potassium, < 18 % de diméthylsulfoxyde, glycérol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % d'amorces d'amont et d'aval de BKV, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de standard de quantification, < 0,01 % de sondes oligonucléotidiques marquées par fluorescence spécifiques au BKV et au standard de quantification du BKV, < 0,01 % d'aptamère d'oligonucléotide, < 0,01 % d'ADN polymérase Z05D, < 0,10 % d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracil-N-glycosylase), < 0,1 % d'azoture de sodium | 9,7 mL                        |



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

Conserver à 2-8 °C

À utiliser avec le système **cobas®** 5800 et les systèmes **cobas®** 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure (P/N 09040951190)À utiliser avec les systèmes **cobas®** 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4 (P/N 08688214190 ou P/N 09040951190)

| Composants du kit                                        | Ingrédients du réactif                                                                                                                                                                                                         | Quantité par kit     | Symboles de sécurité et avertissements*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Contrôle positif bas de EBV/BKV (EBV/BKV L(+ )C)</b>  | < 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique de BKV encapsulé dans la protéine d'enveloppe bactériophage lambda, plasma humain normal, ADN du BKV non détectable par les méthodes de PCR<br><0,1 % de conservateur ProClin® 300** | 4 mL<br>(8 × 0,5 mL) |  <br><b>AVERTISSEMENT</b><br>H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.<br>H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.<br>P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.<br>P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.<br>P280 : Porter des gants de protection.<br>P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.<br>P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.<br>P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée.<br>55965-84-9 Masse réactionnelle de :<br>5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et<br>2-méthyl-2H -isothiazol-3-one (3:1).     |
| <b>Contrôle positif haut de EBV/BKV (EBV/BKV H(+ )C)</b> | < 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique de BKV encapsulé dans la protéine d'enveloppe bactériophage lambda, plasma humain normal, ADN du BKV non détectable par les méthodes de PCR<br><0,1 % de conservateur ProClin® 300** | 4 mL<br>(8 × 0,5 mL) |  <br><b>AVERTISSEMENT</b><br>H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.<br>H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.<br>P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.<br>P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.<br>P280 : Porter des gants de protection.<br>P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.<br>P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.<br>P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée.<br>55965-84-9 Masse réactionnelle de :<br>5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et<br>2-méthyl-2H -isothiazol-3-one (3:1). |

\* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

\*\* Substances ou mélanges dangereux.

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

Conserver à 2-8 °C

À utiliser avec le système cobas® 5800 et les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure (P/N 09051953190)

À utiliser avec les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4 (P/N 07002238190 ou P/N 09051953190)

| Composants du kit                                 | Ingrédients du réactif                                                              | Quantité par kit     |
|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| <b>cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)</b> | Tampon Tris, < 0,1 % d'azoture de sodium, EDTA, 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique) | 16 mL<br>(16 × 1 mL) |

## Réactifs cobas® omni pour préparation des échantillons

Tableau 4 cobas® omni pour préparation des échantillons

| Réactifs                                                                                          | Ingrédients du réactif                                                                                                                                                                                         | Quantité par kit | Symboles de sécurité et avertissements*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>cobas® omni<br/>MGP Reagent<br/>(MGP)</b><br>Conserver à 2-8 °C<br>(P/N 06997546190)           | Particules magnétiques de verre, tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium                                                                                               | 480 tests        | Sans objet                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>cobas® omni<br/>Specimen Diluent<br/>(SPEC DIL)</b><br>Conserver à 2-8 °C<br>(P/N 06997511190) | Tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium                                                                                                                                | 4 × 875 mL       | Sans objet                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>cobas® omni<br/>Lysis Reagent<br/>(LYS)</b><br>Conserver à 2-8 °C<br>(P/N 06997538190)         | 43 % (p/p) de thiocyanate de guanidinium**,<br>5 % (p/v) de polidocanol**,<br>2 % (p/v) de dithiothréitol**,<br>citrate de sodium dihydraté<br><br>EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique. | 4 × 875 mL       |  <p><b>DANGER</b></p> <p>H302 + H332 : Nocif en cas d'ingestion ou par inhalation.<br/>H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.<br/>H411 : Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.<br/>P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.<br/>P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.<br/>P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.<br/>P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.<br/>P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.<br/>P391 : Recueillir le produit déversé.<br/>593-84-0 Thiocyanate de guanidinium<br/>9002-92-0 Polidocanol<br/>3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol</p> |
| <b>cobas® omni<br/>Wash Reagent<br/>(WASH)</b><br>Conserver à 15-30 °C<br>(P/N 06997503190)       | Citrate de sodium dihydraté, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle                                                                                                                                             | 4,2 L            | Sans objet                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

\* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

\*\* Substances ou mélanges dangereux.

## Conditions de manipulation et de stockage des réactifs

Les réactifs doivent être stockés et manipulés comme spécifié dans le Tableau 5, le Tableau 6 et le Tableau 7.

Lorsque les réactifs ne sont pas chargés sur le système **cobas® 5800** ou les systèmes **cobas® 6800/8800**, ils doivent être stockés à la température spécifiée dans le Tableau 5.

**Tableau 5** Stockage des réactifs (lorsque le réactif n'est pas sur le système)

| Réactif                                    | Température de stockage |
|--------------------------------------------|-------------------------|
| <b>cobas®</b> BKV                          | 2-8 °C                  |
| <b>cobas®</b> EBV/BKV Control Kit          | 2-8 °C                  |
| <b>cobas®</b> Buffer Negative Control Kit  | 2-8 °C                  |
| <b>cobas®</b> <b>omni</b> Lysis Reagent    | 2-8 °C                  |
| <b>cobas®</b> <b>omni</b> MGP Reagent      | 2-8 °C                  |
| <b>cobas®</b> <b>omni</b> Specimen Diluent | 2-8 °C                  |
| <b>cobas®</b> <b>omni</b> Wash Reagent     | 15-30 °C                |

## Conditions de manipulation des réactifs pour le système **cobas® 5800** ou les systèmes **cobas® 6800/8800**

Les réactifs chargés sur le système **cobas® 5800** ou les systèmes **cobas® 6800/8800** sont stockés à des températures appropriées et leur date de péremption est surveillée et appliquée par le système. Le système ne permet l'utilisation des réactifs que si toutes les conditions de manipulation des réactifs indiquées dans le Tableau 6, le Tableau 7 et le Tableau 8 sont remplies. Le système empêche automatiquement l'utilisation de réactifs périmés. La stabilité de kit ouvert et le nombre d'utilisations du kit pour les réactifs spécifiques au test sont des informations accessibles via l'interface utilisateur des systèmes.

**Tableau 6** Conditions de péremption des réactifs surveillées et appliquées par le système **cobas® 5800**

| Réactif                                   | Stabilité de kit ouvert                      | Nombre d'utilisations du kit | Stabilité à bord                |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| <b>cobas®</b> BKV                         | 90 jours à partir de la première utilisation | 40                           | 36 jours à partir du chargement |
| <b>cobas®</b> EBV/BKV Control Kit         | flacon à usage unique                        | 8                            | 36 jours à partir du chargement |
| <b>cobas®</b> Buffer Negative Control Kit | flacon à usage unique                        | 16                           | 36 jours à partir du chargement |

**Tableau 7** Conditions de péremption des réactifs surveillées et appliquées par les systèmes **cobas® 6800/8800**

| Réactif                                   | Stabilité de kit ouvert                      | Nombre d'utilisations du kit | Stabilité à bord (à bord, en dehors du réfrigérateur) |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------------|
| <b>cobas®</b> BKV                         | 90 jours à partir de la première utilisation | 40                           | 40 heures à partir du chargement                      |
| <b>cobas®</b> EBV/BKV Control Kit         | flacon à usage unique                        | 8                            | 8 heures à partir du chargement                       |
| <b>cobas®</b> Buffer Negative Control Kit | flacon à usage unique                        | 16                           | 10 heures à partir du chargement                      |

Le Tableau 8 indique la stabilité de kit ouvert des réactifs **cobas® omni**. Avant chaque run, le système vérifie la stabilité de kit ouvert et s'assure que le volume de remplissage est suffisant. Par conséquent, aucun nombre d'utilisations du kit ou stabilité à bord n'est affecté(e) à ces réactifs.

**Tableau 8** Conditions de péremption des réactifs **cobas® omni** surveillées et appliquées par les systèmes **cobas® 5800/6800/8800**

| Réactif                             | Stabilité de kit ouvert                      |
|-------------------------------------|----------------------------------------------|
| <b>cobas® omni</b> Lysis Reagent    | 30 jours à partir du chargement              |
| <b>cobas® omni</b> MGP Reagent      | 30 jours à partir de la première utilisation |
| <b>cobas® omni</b> Specimen Diluent | 30 jours à partir du chargement              |
| <b>cobas® omni</b> Wash Reagent     | 30 jours à partir du chargement              |

## Matériel supplémentaire nécessaire pour les systèmes **cobas® 5800/6800/8800**

**Tableau 9** Matériel à utiliser sur les systèmes **cobas® 5800/6800/8800**

| Matériel                            | P/N         |
|-------------------------------------|-------------|
| <b>cobas® omni</b> Lysis Reagent    | 06997538190 |
| <b>cobas® omni</b> MGP Reagent      | 06997546190 |
| <b>cobas® omni</b> Specimen Diluent | 06997511190 |
| <b>cobas® omni</b> Wash Reagent     | 06997503190 |

**Tableau 10** Consommables à utiliser sur le système **cobas® 5800\***

| Matériel                                                   |
|------------------------------------------------------------|
| <b>cobas® omni</b> Processing Plate 24                     |
| <b>cobas® omni</b> Liquid Waste Plate 24                   |
| <b>cobas® omni</b> Amplification Plate 24                  |
| Embout CORE TIPS avec filtre, 1 mL                         |
| Embout CORE TIPS avec filtre, 300 µL                       |
| <b>cobas® omni</b> Liquid Waste Container                  |
| Sac à déchets solides ou sac à déchets solides avec insert |
| Portoir S de tubes à 16 positions complet                  |
| Portoir de racks à 5 positions                             |

\* Pour consulter les numéros de pièces, se reporter à l'Assistance Utilisateur du système **cobas® 5800**.

**Tableau 11** Consommables à utiliser sur les systèmes **cobas®** 6800/8800\*

| Matériel                                                                                                |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>cobas®</b> <b>omni</b> Processing Plate                                                              |
| <b>cobas®</b> <b>omni</b> Amplification Plate                                                           |
| <b>cobas®</b> <b>omni</b> Pipette Tips                                                                  |
| <b>cobas®</b> <b>omni</b> Liquid Waste Container                                                        |
| Sac à déchets solides et réservoir à déchets solides ou sac à déchets solides avec insert et kit tiroir |
| MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 2001-2050**,***                                                              |

\* Pour consulter l'ensemble des messages système, se reporter à l'Assistance Utilisateur des systèmes **cobas®** 6800/8800.

\*\* Contacter le représentant Roche local pour obtenir une liste détaillée de références de racks d'échantillons, racks pour embouts à filtre et plateaux de racks acceptés sur les instruments.

\*\*\* Il est préférable d'utiliser des racks 16 mm MPA pour les échantillons prélevés dans des tubes de **cobas®** PCR Media.

**Tableau 12** Kits de prélèvement des échantillons urinaires utilisés avec **cobas®** BKV

| Kit de prélèvement                                         | P/N         |
|------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>cobas®</b> PCR Urine Sample Kit                         | 05170486190 |
| <b>cobas®</b> PCR Media Kit                                | 06466281190 |
| <b>cobas®</b> PCR Media Secondary Tube Kit*                | 07958048190 |
| <b>cobas®</b> PCR Media Tube Replacement Cap Kit*          | 07958056190 |
| <b>cobas®</b> PCR Media Disposable Tube Stand (en option)* | 07958064190 |

\* Contacter le représentant Roche local pour plus d'informations

Remarque : le kit d'échantillonnage urinaire **cobas®** PCR Urine Sample Kit est utilisé pour collecter et transporter des échantillons d'urine. Chaque kit d'échantillonnage urinaire **cobas®** PCR Urine Sample Kit contient 100 boîtes d'échantillonnage urinaire pour PCR **cobas®**. Chaque boîte contient 1 pipette jetable et 1 tube **cobas®** PCR Media, contenant 4,3 mL de **cobas®** PCR Media. Le **cobas®** PCR Media permet de transporter et de conserver les échantillons urinaires tout en stabilisant les acides nucléiques.

Pour les échantillons urinaires envoyés directement au laboratoire sans l'utilisation du **cobas®** PCR Urine Sample Kit lors du prélèvement, le kit **cobas®** PCR Media contenant 100 tubes **cobas®** PCR Media (sans pipettes jetables) peut être utilisé comme alternative, étant donné que l'urine doit être transférée dans les 24 heures suivant le prélèvement.

## Instruments et logiciels nécessaires

Le logiciel du système **cobas**® 5800, le logiciel des systèmes **cobas**® 6800/8800 et les fichiers d'analyse **cobas**® BKV (ASAP) pour les systèmes **cobas**® 5800/6800/8800 doivent être installés.

Pour le système **cobas**® 5800 et les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version de logiciel 2.0 ou supérieure, le logiciel x800 Data Manager et le PC (ou serveur) sont fournis avec le système.

Pour les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version de logiciel 1.4, le serveur IG (Instrument Gateway) est fourni avec le système.

**Tableau 13** Instrumentation

| Équipement                                                                  | P/N                        |
|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Système <b>cobas</b> ® 5800                                                 | 08707464001                |
| Système <b>cobas</b> ® 6800                                                 | 05524245001 et 09575154001 |
| Système <b>cobas</b> ® 8800                                                 | 05412722001 et 09575146001 |
| Module de chargement des échantillons les systèmes <b>cobas</b> ® 6800/8800 | 06301037001 et 09936882001 |

Se reporter à l'Assistance Utilisateur du système **cobas**® 5800 ou des systèmes **cobas**® 6800/8800 pour obtenir plus d'informations

Remarque : contacter le représentant Roche local pour obtenir une liste détaillée de références des tubes primaires et secondaires, racks échantillons, racks pour embouts à filtre et plateaux de racks acceptés sur les instruments.

**cobas**® BKV accepte le tube primaire utilisé pour les types d'échantillons urinaires prélevés dans le **cobas**® PCR Media.

# Précautions et conditions de manipulation

## Avertissements et précautions

Comme pour le déroulement de tout test, de bonnes pratiques de laboratoire sont indispensables pour assurer la qualité de cette analyse. Du fait de la sensibilité élevée de ce test, il est indispensable d'éviter toute contamination des réactifs et des mélanges d'amplification.

- Destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- L'utilisation du test **cobas® BKV** en tant que test de dépistage du BKV dans le sang ou les produits sanguins n'a pas été évaluée.
- Tous les échantillons de patient doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, telles que celles mentionnées dans Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ainsi que dans le document M29-A4 du CLSI.<sup>15, 16</sup> Seul le personnel expert dans la manipulation du matériel présentant un risque biologique et l'utilisation du test **cobas® BKV** et des systèmes **cobas® 5800/6800/8800** doit effectuer cette procédure.
- Tout produit d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infectieux et doit être manipulé selon les précautions universelles. En cas d'éclaboussures, désinfecter immédiatement avec une solution fraîchement préparée contenant 0,5 % d'hypochlorite de sodium ou de potassium dans de l'eau distillée ou déionisée ou suivre les procédures locales appropriées.
- Le **cobas® EBV/BKV Control Kit** contient du plasma dérivé de sang humain. Le matériel source a été testé par les méthodes de PCR et a montré des traces acceptables de faibles niveaux d'ADN du BKV. Toutefois, aucune méthode de test connue ne peut garantir avec une certitude absolue que des produits dérivés de sang humain sont exempts de tout risque de transmission d'agents infectieux.
- **Ne pas congeler le sang total ni les échantillons urinaires stockés dans des tubes primaires.**
- Utiliser uniquement les consommables nécessaires fournis ou indiqués afin d'assurer des performances de test optimales.
- Les fiches de sécurité (ou SDS pour Safety Data Sheets) sont disponibles sur demande auprès de votre représentant Roche local.
- Suivre rigoureusement les procédures et les directives fournies pour assurer le bon déroulement du test. Tout écart par rapport aux procédures et directives peut affecter les performances du test.
- Il existe un risque de résultats faux positifs si l'interférence des échantillons n'est pas correctement contrôlée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.
- Le **cobas® PCR Media** (de tube d'échantillon primaire) contient du chlorhydrate de guanidine. **Éviter les contacts directs entre le chlorhydrate de guanidine et l'hypochlorite de sodium ou de potassium ou d'autres produits hautement réactifs tels que les acides ou les basiques. Ces mélanges peuvent libérer un gaz toxique.**
- En cas de déversement de liquide contenant du chlorhydrate de guanidine, nettoyer avec du détergent de laboratoire adéquat et de l'eau. Si le liquide déversé contient des agents potentiellement infectieux, nettoyer la zone affectée **D'ABORD** avec du détergent de laboratoire et de l'eau, puis avec de l'hypochlorite de sodium ou de potassium à 0,5 %.
- Informez votre autorité locale compétente et votre fabricant responsable au sujet de tout incident grave pouvant survenir lors de l'utilisation de ce test.



## Manipulation des réactifs

- Manipuler tous les réactifs, contrôles et échantillons selon les bonnes pratiques de laboratoire afin d'éviter une interférence des échantillons ou des contrôles.
- Avant utilisation, inspecter visuellement chaque cassette de réactifs, diluant, réactif de lyse et réactif de lavage pour détecter tout signe de fuite. En présence de fuite, ne pas utiliser ce matériel pour le test.
- Le **cobas® omni** Lysis Reagent contient du thiocyanate de guanidine, un produit chimique dangereux. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure.
- Les kits de test **cobas® BKV**, le **cobas® omni** MGP Reagent et le **cobas® omni** Specimen Diluent contiennent de l'azoture de sodium en tant que conservateur. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure. Si ces réactifs sont renversés, diluer avec de l'eau avant d'essuyer.
- Éviter tout contact entre le **cobas® omni** Lysis Reagent, qui contient du thiocyanate de guanidine, et la solution d'hypochlorite de sodium ou de potassium. Le mélange peut produire un gaz extrêmement toxique.
- Jeter tout le matériel qui a été en contact avec les échantillons et réactifs conformément à la réglementation nationale, fédérale, régionale et locale.

## Bonnes pratiques de laboratoire

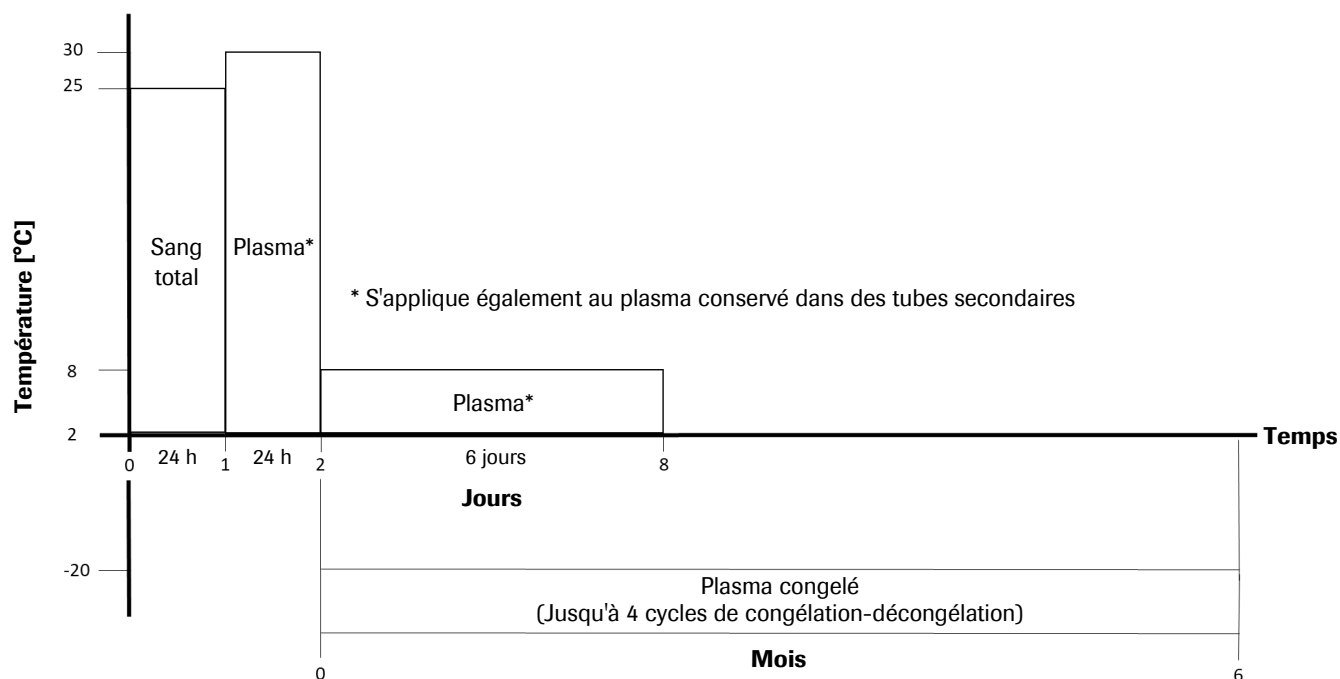
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail désignées.
- Porter des gants de laboratoire, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation d'échantillons et de réactifs. Afin d'éviter toute contamination, les gants doivent être changés entre la manipulation d'échantillons et la manipulation de réactifs des kits de test **cobas® BKV**, de contrôle positif bas de EBV/BKV (EBV/BKV L(+))C), de contrôle positif haut de EBV/BKV (EBV/BKV H(+))C), des **cobas®** Buffer Negative Control Kits et **cobas® omni**. Éviter la contamination des gants lors de la manipulation des échantillons et des contrôles.
- Bien se laver les mains après la manipulation d'échantillons et de réactifs de test, et après le retrait des gants.
- Nettoyer et désinfecter soigneusement tous les plans de travail du laboratoire avec une solution fraîchement préparée d'hypochlorite de sodium ou de potassium à 0,5 % dans de l'eau distillée ou déionisée. Puis essuyer les surfaces avec de l'éthanol à 70 %.
- En cas d'éclaboussures sur l'instrument **cobas® 5800** ou les instruments **cobas® 6800/8800**, suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur du système **cobas® 5800** ou des systèmes **cobas® 6800/8800** afin de nettoyer et de décontaminer correctement les surfaces du ou des instruments.

# Prélèvement, transport et conservation des échantillons

**Remarque :** manipuler tous les échantillons et contrôles comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux.

## Échantillons de plasma EDTA

- Conserver tous les échantillons aux températures indiquées. La stabilité des échantillons est affectée par les températures élevées.
- En cas d'utilisation d'échantillons congelés dans des tubes secondaires, mettre les échantillons à température ambiante (15 à 30 °C) jusqu'à ce qu'ils soient complètement décongelés, puis les mélanger brièvement (par exemple agiter au vortex pendant 3 à 5 secondes) et les centrifuger pour regrouper le volume échantillon complet au fond du tube.
- Le sang total doit être prélevé dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant. Suivre les instructions du fabricant des tubes de prélèvement d'échantillons. Consulter le Figure 1.
- Le sang total prélevé dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant peut être conservé et/ou transporté à une température comprise entre 2 et 25 °C pendant 24 heures au maximum avant la préparation du plasma. La centrifugation doit être effectuée conformément aux instructions du fabricant.
- Après la séparation, les échantillons de plasma peuvent être conservés dans des tubes primaires ou secondaires pendant 24 heures à une température comprise entre 2 et 30 °C, puis :
  - Conservation dans des tubes primaires ou secondaires pendant une durée maximale de 6 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C.
  - Conservation dans des tubes secondaires pendant une durée maximale de 6 mois à une température  $\leq -20$  °C.
- Les échantillons de plasma sont stables pendant un maximum de quatre cycles de congélation/décongélation lorsqu'ils sont conservés à une température  $\leq -20$  °C.
- Si les échantillons sont expédiés, ils doivent être emballés et étiquetés conformément aux réglementations nationales et internationales sur le transport d'échantillons et d'agents étiologiques.

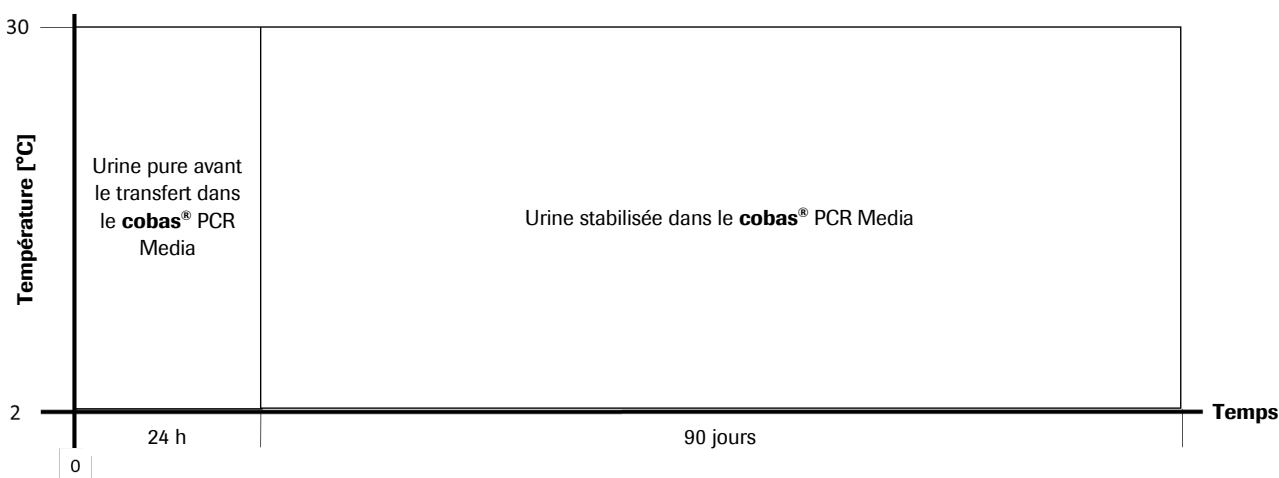
**Figure 1** Conditions de stockage des échantillons de plasma EDTA

## Échantillons urinaires

- Utiliser le **cobas®** PCR Urine Sample Kit uniquement pour le prélèvement et la stabilisation d'échantillons urinaires pour le test **cobas®** BKV. Le **cobas®** BKV n'a pas été validé pour une utilisation avec d'autres dispositifs de prélèvement d'urine ou d'autres types de milieu. L'utilisation du **cobas®** BKV avec d'autres dispositifs de prélèvement d'urine et d'autres types de milieu peut entraîner des faux négatifs, des faux positifs et/ou des résultats invalides.
- Les échantillons d'urine doivent être immédiatement transférés dans le tube de **cobas®** PCR Media (stabilisé). Si les échantillons ne peuvent pas être transférés immédiatement, ils peuvent être conservés entre 2 et 30 °C pendant 24 heures au maximum.  
Une fois les échantillons urinaires stabilisés dans le **cobas®** PCR Media, les échantillons peuvent être stockés pendant 90 jours maximum à une température comprise entre 2 et 30 °C. Consultez la Figure 2.
- Le niveau de liquide des échantillons urinaires non testés doit être situé entre les deux lignes noires de la fenêtre de l'étiquette du tube de **cobas®** PCR Media. Si le niveau du liquide est au-dessus ou en-dessous de ces lignes, l'échantillon n'a pas été prélevé correctement et ne peut pas être utilisé pour un test.
- Si le volume d'urine disponible est insuffisant (4,3 mL) pour être dilué dans le tube **cobas®** PCR Urine Sample, l'urine peut être diluée manuellement avec le **cobas®** PCR Media. Avant d'effectuer un test avec le **cobas®** BKV, au moins 0,5 mL d'urine pure doit être diluée manuellement dans le **cobas®** PCR Media (ratio de 1:1).
- Afin d'éviter toute contamination croisée des échantillons traités, des bouchons supplémentaires pour les tubes de **cobas®** PCR Media d'une autre couleur (neutre ; voir la section **Matériel supplémentaire nécessaire**) doivent être utilisés pour refermer les échantillons une fois le test effectué.

- Si des tests supplémentaires sont requis, s'assurer qu'il reste au moins 1,2 mL d'échantillon dans le tube de **cobas® PCR Media**.
- Si les échantillons sont expédiés, ils doivent être emballés et étiquetés conformément aux réglementations nationales et internationales sur le transport d'échantillons et d'agents étiologiques.

**Figure 2** Conditions de stockage de l'urine



## Instructions d'utilisation

### Notes de procédure

- Ne pas utiliser les réactifs du test **cobas® BKV**, le **cobas® EBV/BKV Control Kit**, le **cobas® Buffer Negative Control Kit**, ni les réactifs **cobas® omni** après leur date de péremption.
- Ne pas réutiliser les consommables. Ils sont destinés à un usage unique.
- Le test **cobas® BKV** peut être exécuté avec un volume d'échantillon minimum requis de 350 µL pour les échantillons de plasma EDTA (pour la procédure de travail avec échantillons de 200 µL) et de 550 µL pour les échantillons d'urine stabilisée (pour la procédure de travail avec échantillons de 400 µL).
- Les échantillons doivent être débouchés et chargés directement sur les racks pour être traités sur le système **cobas® 5800**.
- Un run unique peut être composé d'une combinaison d'échantillons (plasma, urine stabilisée).

### Exécution du test **cobas® BKV** sur les systèmes **cobas® 5800/6800/8800**

- Le fonctionnement des instruments est décrit en détail dans l'Assistance Utilisateur du système **cobas® 5800** ou des systèmes **cobas® 6800/8800**.
- Se reporter à l'Assistance Utilisateur du système **cobas® 5800** ou des systèmes **cobas® 6800/8800** pour obtenir des informations sur la bonne maintenance des instruments.

- Les échantillons de plasma EDTA et d'urine stabilisée doivent être traités à l'aide de la sélection du type d'échantillon dans l'interface utilisateur (IU) du **cobas®** BKV, tel que décrit dans l'étape 2 de la Figure 3 et l'étape 1 de la Figure 4.
- S'assurer que les étiquettes à codes-barres des échantillons figurant sur les tubes échantillon sont visibles à travers les ouvertures latérales des racks d'échantillons RD5 ou MPA. Se reporter à l'Assistance Utilisateur du système **cobas®** 5800 ou des systèmes **cobas®** 6800/8800 pour consulter les spécifications relatives aux codes-barres appropriés et obtenir des informations supplémentaires sur le chargement des tubes échantillon.

**Figure 3** **cobas®** BKV : procédure du test sur le système **cobas®** 5800

|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1</b> | Se connecter au système<br>Appuyer sur « Démarrer » pour préparer le système                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>2</b> | Charger les échantillons sur le système : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Charger les racks d'échantillons sur le système</li> <li>• Le système se prépare automatiquement</li> <li>• Demander des tests <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Pour les demandes d'échantillons de plasma EDTA, choisir « Plasma »</li> <li>○ Pour les demandes d'échantillons urinaires prélevés dans le <b>cobas®</b> PCR Media, choisir « Urine » <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Déboucher le tube</li> <li>▪ Transférer le tube directement dans un rack</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>                                         |
| <b>3</b> | Charger les réactifs et les consommables comme indiqué par le système : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Charger la ou les cassettes de réactifs spécifique(s) au test</li> <li>• Charger les mini-racks de contrôles</li> <li>• Charger les embouts de traitement</li> <li>• Charger les embouts d'élution</li> <li>• Charger les plaques de traitement</li> <li>• Charger les plaques à déchets liquides</li> <li>• Charger les plaques d'amplification</li> <li>• Charger la cassette MGP</li> <li>• Recharger le diluant de spécimen</li> <li>• Recharger le réactif de lyse</li> <li>• Recharger le réactif de lavage</li> </ul> |
| <b>4</b> | Démarrer le run en sélectionnant le bouton de démarrage du traitement sur l'interface utilisateur ; tous les runs suivants démarreront automatiquement s'ils ne sont pas reportés manuellement                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>5</b> | Consulter et exporter les résultats                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>6</b> | Retirer et boucher tous les tubes d'échantillon présentant le volume minimum requis s'ils doivent être réutilisés ultérieurement<br>Nettoyer l'instrument : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Décharger les mini-racks de contrôle vides</li> <li>• Décharger la ou les cassettes de réactifs spécifique(s) au test vide(s)</li> <li>• Vider le tiroir de plaques d'amplification</li> <li>• Vider les déchets liquides</li> <li>• Vider les déchets solides</li> </ul>                                                                                                                                                                |

**Figure 4** cobas® BKV : procédure du test sur les systèmes cobas® 6800/8800

|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1</b> | <p>Se connecter au système</p> <p>Appuyer sur « Démarrer » pour préparer le système</p> <p>Demander des tests :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pour les demandes d'échantillons de plasma EDTA, choisir « Plasma »</li> <li>• Pour les demandes d'échantillons urinaires prélevés dans le cobas® PCR Media, choisir « Urine »</li> </ul>                                                                                                                                                                                    |
| <b>2</b> | <p>Charger les réactifs et les consommables comme indiqué par le système :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Charger la cassette de réactifs spécifique au test</li> <li>• Charger les cassettes de contrôles</li> <li>• Charger les embouts de pipette</li> <li>• Charger les plaques de traitement</li> <li>• Charger le réactif MGP</li> <li>• Charger les plaques d'amplification</li> <li>• Recharger le diluant de spécimen</li> <li>• Recharger le réactif de lyse</li> <li>• Recharger le réactif de lavage</li> </ul> |
| <b>3</b> | <p>Chargement des échantillons sur le système :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pour les échantillons urinaires primaires prélevés dans le cobas® PCR Media <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Déboucher le tube</li> <li>◦ Transférer le tube directement dans un rack</li> </ul> </li> <li>• Charger le rack d'échantillons et les racks pour embouts bouchés dans le module de chargement des échantillons</li> <li>• Confirmer que les échantillons ont été acceptés dans le module de transfert</li> </ul>        |
| <b>4</b> | <p>Démarrer le run en sélectionnant le bouton « Démarrer manuellement » sur l'interface utilisateur ou le faire démarrer automatiquement après 120 minutes ou si la série est pleine</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>5</b> | <p>Consulter et exporter les résultats</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>6</b> | <p>Retirer et boucher tous les tubes d'échantillon présentant le volume minimum requis s'ils doivent être réutilisés ultérieurement</p> <p>Nettoyer l'instrument :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Décharger les cassettes de contrôles vides</li> <li>• Vider le tiroir de plaques d'amplification</li> <li>• Vider les déchets liquides</li> <li>• Vider les déchets solides</li> </ul>                                                                                                                                    |

## Résultats

Les systèmes **cobas**® 5800/6800/8800 déterminent automatiquement la concentration de l'ADN du BKV dans les échantillons et les contrôles. La concentration d'ADN du BKV est exprimée en Unités Internationales par millilitre (UI/mL).

### Contrôle qualité et validité des résultats sur le système **cobas**® 5800 et les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure

- Un **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] et deux **cobas**® EBV/BKV Positive Controls, un contrôle positif bas [EBV/BKV L (+) C] et un contrôle positif haut [EBV/BKV H (+) C], sont traités au moins toutes les 72 heures et avec chaque nouveau lot de kits. Des contrôles positifs et/ou négatifs plus fréquents peuvent être prévus en fonction des procédures de laboratoire et/ou de la réglementation locale.
- Les résultats des contrôles sont indiqués dans l'application « Contrôles ».
- Dans le logiciel et/ou le rapport, consulter les alertes pour s'assurer de la validité des résultats de tests correspondants (se référer à l'Assistance Utilisateur du x800 Data Manager pour une « Liste des messages »).
- Les contrôles sont marqués par « Valid » dans la colonne « Résultat du contrôle » si la cible respective des contrôles est signalée valide. Les contrôles sont marqués par « Invalid » dans la colonne « Résultat de contrôle » si la cible respective des contrôles est signalée invalide.
- Les contrôles marqués par « Invalid » sont accompagnés d'un symbole d'alerte dans la colonne « Alertes ». L'affichage détaillé offre plus d'informations sur les raisons du signalement invalide du contrôle, notamment des informations sur les alertes.
- Si l'un des contrôles est invalide, une répétition du test est requise pour tous les contrôles et tous les échantillons associés.

La validation des résultats est effectuée automatiquement par le logiciel de l'instrument en fonction des résultats des contrôles.

**REMARQUE :** à la livraison, le système **cobas**® 5800 et les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure sont paramétrés pour effectuer un ensemble de contrôles (positifs et négatifs) à chaque run, mais il est possible de configurer une fréquence inférieure allant jusqu'à toutes les 72 heures, en fonction des procédures de laboratoire et/ou de la réglementation locale. Merci de contacter votre ingénieur de service Roche et/ou l'assistance technique Roche pour plus d'informations.

### Contrôle qualité et validité des résultats sur les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4

- Un **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] et deux **cobas**® EBV/BKV Positive Controls, un contrôle positif bas [EBV/BKV L (+) C] et un contrôle positif haut [EBV/BKV H (+) C], sont traités avec chaque série.
- Dans le logiciel et/ou dans le rapport, consulter les alertes et les résultats associés pour s'assurer de la validité de la série.
- Tous les messages sont décrits dans l'Assistance Utilisateur des systèmes **cobas**® 6800/8800.
- La série est valide si aucune alerte n'apparaît pour tous les contrôles. Si la série est invalide, une répétition du test la série complète est requise.

La validation des résultats est effectuée automatiquement par le logiciel de l'instrument en fonction des résultats des contrôles.

## Alertes de contrôle sur les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4

Pour une série valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel du système cobas® 5800 et des systèmes cobas® 6800/8800 et/ou dans les rapports. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Une série valide peut comporter des résultats d'échantillon valides et invalides.

**Tableau 14** Alertes de contrôle pour les contrôles négatifs et positifs

| Contrôle négatif | Alerte                                 | Résultat | Interprétation                                                                                                             |
|------------------|----------------------------------------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (-) Ctrl         | Q02<br>(Échec de la série de contrôle) | Invalid  | Résultat invalide ou le résultat de titre calculé pour le contrôle négatif n'est pas négatif.                              |
| Contrôle positif | Alerte                                 | Résultat | Interprétation                                                                                                             |
| EBV/BKV L (+) C  | Q02<br>(Échec de la série de contrôle) | Invalid  | Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle positif bas se situe en dehors du domaine théorique.  |
| EBV/BKV H (+) C  | Q02<br>(Échec de la série de contrôle) | Invalid  | Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle positif haut se situe en dehors du domaine théorique. |

## Interprétation des résultats pour les systèmes cobas® 5800/6800/8800

Pour une série valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel du système cobas® 5800 et des systèmes cobas® 6800/8800 et/ou dans les rapports. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Une série valide peut comporter des résultats d'échantillon valides et invalides.

**Tableau 15** Résultats cibles pour l'interprétation des résultats cibles individuels

| Résultats                | Interprétation                                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Target Not Detected      | ADN du BKV non détecté.<br>Enregistrer les résultats comme suit : « BKV non détecté ».                                                                                                                                                         |
| < Titer Min <sup>a</sup> | Le titre calculé se situe sous la limite de quantification inférieure (LLOQ) du test.<br>Enregistrer les résultats comme suit : « BKV détecté, inférieur à (titre min) ».<br>Titre min plasma EDTA = 21,5 UI/mL<br>Titre min urine = 200 UI/mL |
| Titer                    | Le titre calculé se situe dans le domaine de linéarité du test : supérieur ou égal au titre min. et inférieur ou égal au titre max.<br>Enregistrer les résultats comme suit : « (Titre) de BKV détecté ».                                      |
| > Titer Max <sup>b</sup> | Le titre calculé se situe au-dessus de la limite de quantification supérieure (ULOQ) du test.<br>Enregistrer les résultats comme suit : « BKV détecté, supérieur à (titre max) ».<br>Titre max plasma EDTA et urine = 1,0E+08 UI/mL            |

<sup>a</sup> Des résultats d'échantillons « < Titer Min » (cible détectée < LLOQ) doivent être interprétés en tenant compte des autres données cliniques et ne doivent pas constituer le seul critère sur lequel fonder une décision de traitement.

<sup>b</sup> Un résultat d'échantillon « > Titer Max » correspond à des échantillons positifs pour l'BKV dont les titres sont supérieurs à la limite de quantification supérieure (ULOQ). Si l'on désire obtenir un résultat quantitatif pour les échantillons de plasma EDTA, l'échantillon d'origine doit être dilué dans du plasma humain prélevé sur EDTA négatif pour le BKV et l'analyse doit être répétée. Multiplier le résultat enregistré par le coefficient de dilution.



## **Interprétation des résultats sur le système cobas® 5800 et les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure**

Les résultats des échantillons sont indiqués dans l'application « Résultats » du logiciel.

Pour une série de contrôles valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel et/ou dans le rapport. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Les échantillons associés à une série de contrôles valide sont marqués par « Valide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si les résultats de cibles de contrôle respectifs sont signalés valides. Les échantillons associés à l'échec d'une série de contrôles sont marqués par « Invalide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si les résultats de cibles de contrôle respectifs sont signalés invalides.
- Si les contrôles associés à un résultat d'échantillon sont invalides, une alerte spécifique est ajoutée au résultat d'échantillon comme suit :
  - Q05D : échec de validation de résultat en raison d'un contrôle positif invalide
  - Q06D : échec de validation de résultat en raison d'un contrôle négatif invalide
- Les valeurs de la colonne « Résultats » pour un résultat de cible d'échantillon individuel doivent être interprétées comme indiqué dans le Tableau 15 ci-dessus.
- Si une ou plusieurs cibles d'échantillon sont marquées par « Invalide », le logiciel indique une alerte dans la colonne « Alertes ». L'affichage détaillé offre plus d'informations sur les raisons du signalement invalide de la ou des cibles d'échantillon, notamment des informations sur les alertes.

## **Interprétation des résultats sur les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4**

Pour une série valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel et/ou dans le rapport.

Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Les échantillons sont marqués d'un « Yes » dans la colonne « Valide » si tous les résultats demandés pour la cible ont donné des résultats valides. Les échantillons marqués d'un « No » dans la colonne « Valide » peuvent nécessiter une interprétation et une action supplémentaires.
- Les valeurs de résultat de cible d'échantillon individuel doivent être interprétées comme indiqué dans le Tableau 15 ci-dessus.

## Limitations procédurales

- Le test **cobas**® BKV a été évalué uniquement pour être utilisé conjointement au **cobas**® EBV/BKV Control Kit, au **cobas**® Buffer Negative Control Kit, au **cobas**® **omni** MGP Reagent, au **cobas**® **omni** Lysis Reagent, au **cobas**® **omni** Specimen Diluent et au **cobas**® **omni** Wash Reagent sur les systèmes **cobas**® 5800/6800/8800.
- La fiabilité des résultats dépend du suivi correct des procédures de prélèvement, stockage et manipulation des échantillons.
- Ce test a été validé pour être utilisé exclusivement avec du plasma EDTA et de l'urine stabilisée. L'analyse d'autres types d'échantillons avec le test **cobas**® BKV peut aboutir à des résultats inexacts. Les mesures de niveau d'ADN effectuées sur du plasma et de l'urine stabilisée ne sont pas comparables directement entre elles ni aux mesures effectuées sur d'autres types d'échantillon.
- La quantification de l'ADN du BKV peut être affectée par les méthodes de collecte d'échantillons, les facteurs relatifs aux patients (c'est-à-dire l'âge, la présence de symptômes) et/ou le stade de l'infection.
- La dégradation de l'ADN du BKV dans l'urine pure peut affecter sa quantification.<sup>17</sup> Pour que l'échantillon soit stable, l'urine doit être transférée dans du **cobas**® PCR Media.
- La variabilité quantitative de l'ADN de BKV inhérente à l'urine a été observée lors d'expériences sur la stabilité des échantillons à différents moments de l'échantillonnage (urine pure) ou dans différentes aliquotes du même échantillon (urine pure et urine stabilisée sans le **cobas**® PCR Media).
- Compte tenu de ces limites, les résultats de l'ADN du BKV dans l'urine doivent être interprétés avec prudence dans le contexte des résultats cliniques et autres résultats de laboratoire et ne doivent pas constituer le seul critère sur lequel fonder une décision de traitement.
- L'urine peut contenir des niveaux élevés d'ADN de BKV, avec le risque de contamination croisée.<sup>18</sup>
- Comme pour tout test moléculaire, des mutations aux niveaux des régions cibles du test **cobas**® BKV peuvent affecter la liaison des amorces et/ou des sondes et entraîner une sous-quantification du virus ou l'échec de la détection du virus.
- En raison des différences inhérentes à chaque technologie, il est recommandé aux utilisateurs, avant de passer d'une technologie à l'autre, de mener des études de corrélation de méthodes au sein de leur laboratoire afin de caractériser les différences entre les diverses technologies. Les utilisateurs doivent suivre leurs propres politiques/procédures.
- Le test **cobas**® BKV n'est pas destiné au dépistage du BKV dans le sang ou les produits sanguins.

# Évaluation des performances non cliniques

## Équivalence des systèmes

L'équivalence des systèmes **cobas® 5800**, **cobas® 6800** et **cobas® 8800** a été démontrée au moyen d'études de performances. Les données présentées dans ces instructions d'utilisation indiquent des performances équivalentes pour tous les systèmes.

## Principales caractéristiques de performance pour le type d'échantillon Plasma EDTA

### Limite de détection (LoD) pour le standard international de l'OMS

La limite de détection du test **cobas® BKV** pour le 1<sup>er</sup> standard international de l'OMS a été déterminée par l'analyse de dilutions en série du 1<sup>er</sup> standard international BKV de l'OMS, obtenu auprès du NIBSC (NIBSC 14/212), dans du plasma humain prélevé sur EDTA négatif pour le BKV. Des panels de six niveaux de concentration plus un échantillon blanc ont été testés sur trois lots de réactifs du test **cobas® BKV**, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments.

Les résultats obtenus pour le plasma EDTA sont indiqués du Tableau 16 au Tableau 18. Cette étude démontre qu'avec le lot le moins sensible, la concentration pour laquelle un taux de succès de 95 % est attendu avec PROBIT est de 21,5 UI/mL avec un intervalle de confiance à 95 % de 16,3 à 32,4 UI/mL dans du plasma EDTA. La concentration la plus faible avec un taux de succès  $\geq 95$  % est 19,0 UI/mL dans du plasma EDTA.

**Tableau 16** Limite de détection dans le plasma EDTA, lot 1

| Concentration de titre d'entrée (ADN du BKV, UI/mL)        | Nb de répliquats valides                                       | Nb de positifs | Taux de succès en % |
|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|----------------|---------------------|
| 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                 |
| Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT | 21,5 UI/mL<br>Intervalle de confiance à 95 % : 16,3-32,4 UI/mL |                |                     |

**Tableau 17** Limite de détection dans le plasma EDTA, lot 2

| Concentration de titre d'entrée (ADN du BKV, UI/mL)        | Nb de réplicats valides                                        | Nb de positifs | Taux de succès en % |
|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|----------------|---------------------|
| 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                 |
| Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT | 19,7 UI/mL<br>Intervalle de confiance à 95 % : 15,0-29,2 UI/mL |                |                     |

**Tableau 18** Limite de détection dans le plasma EDTA, lot 3

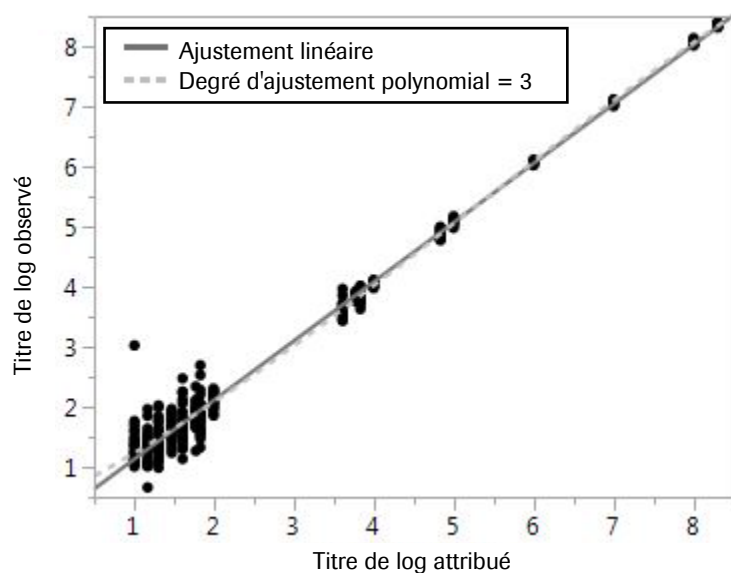
| Concentration de titre d'entrée (ADN du BKV, UI/mL)        | Nb de réplicats valides                                        | Nb de positifs | Taux de succès en % |
|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|----------------|---------------------|
| 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                 |
| Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT | 19,3 UI/mL<br>Intervalle de confiance à 95 % : 14,8-28,5 UI/mL |                |                     |

## Domaine de linéarité

La linéarité du test **cobas®** BKV a été évaluée à l'aide de dilutions en séries constituée de 18 membres de panel avec l'ADN du sous-groupe Ib du BKV couvrant le domaine de linéarité du test. Un stock d'ADN lambda de titre élevé a été utilisé pour préparer 11 membres de panel couvrant l'ensemble du domaine de linéarité. Un échantillon clinique a été utilisé pour préparer sept membres de panel couvrant les niveaux intermédiaire et inférieur du domaine de linéarité.

Chaque membre du panel a été testé en 36 réplicats sur trois lots de réactifs du test **cobas®** BKV et les résultats de l'étude sont présentés dans la Figure 5.

Il a été démontré que le test **cobas®** BKV est linéaire de 1,01E+01 UI/mL à 1,97E+08 UI/mL et présente une déviation absolue par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement inférieure ou égale à  $\pm 0,1 \log_{10}$  dans le plasma EDTA humain (voir Figure 5). Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à  $\pm 0,2 \log_{10}$ .

**Figure 5** Détermination du domaine de linéarité dans le plasma EDTA

## Précision intra-laboratoire

La précision du test **cobas®** BKV a été déterminée en analysant des dilutions en série d'ADN du BKV de titre élevé (sous-groupe Ib) dans du plasma EDTA négatif pour le BKV. Cinq niveaux de dilution ont été testés en 72 réplicats pour chaque niveau sur trois lots de réactifs du test **cobas®** BKV par deux opérateurs, sur quatre instruments, pendant 12 jours. Chaque échantillon a subi la procédure entière du test **cobas®** BKV sur des systèmes **cobas®** 6800/8800 entièrement automatisés. La précision indiquée plus bas prend donc en compte tous les aspects de la procédure de test. Les résultats sont présentés dans le Tableau 19.

Le test **cobas®** BKV a présenté une précision élevée pour trois lots de réactifs testés sur une plage de concentration de 9,83E+01 UI/mL à 9,83E+05 UI/mL.

**Tableau 19** Précision intra-laboratoire du test **cobas®** BKV\*

| Concentration nominale [UI/mL] | Concentration attribuée [UI/mL] | Plasma EDTA |          |          |               |
|--------------------------------|---------------------------------|-------------|----------|----------|---------------|
|                                |                                 | Lot n° 1    | Lot n° 2 | Lot n° 3 | Tous les lots |
|                                |                                 | ET          | ET       | ET       | DS globale    |
| 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          |

\* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de  $\log_{10}$ . Les colonnes d'écart-type (ET) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

## Vérification de sous-type

Les performances du test **cobas**® BKV sur les sous-types I (avec les sous-groupes Ia et Ic), II, III et IV de BKV ont été évaluées par :

- Vérification de la limite de détection
- Vérification du domaine de linéarité

### Vérification de la limite de détection pour les sous-types I (avec les sous-groupes Ia et Ic), II, III et IV

L'ADN du BKV pour les cinq différents sous-types/sous-groupes (Ia, Ic, II, III et IV) a été dilué à trois niveaux de concentration différents dans du plasma EDTA négatif pour le BKV. Le taux de succès a été déterminé avec 63 réplicats pour chaque niveau. Les tests ont été effectués avec trois lots de réactifs du test **cobas**® BKV, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments. Ces résultats démontrent que le test **cobas**® BKV a détecté l'ADN du BKV pour cinq différents sous-types/sous-groupes à des concentrations de 21,5 UI/mL avec un taux de succès  $\geq 95$  %.

### Vérification du domaine de linéarité pour les sous-types I (avec les sous-groupes Ia et Ic), II, III et IV

La série de dilutions utilisée dans la vérification de l'étude de linéarité des sous-types/sous-groupes du test **cobas**® BKV comprenait huit membres de panel couvrant le domaine de linéarité du test. Les tests ont été effectués avec trois lots de réactifs du test **cobas**® BKV ; 12 réplicats par niveau ont été testés dans du plasma EDTA.

Le domaine de linéarité du test **cobas**® BKV a été vérifié pour les cinq sous-types/sous-groupes (Ia, Ic, II, III et IV).

## Spécificité

La spécificité du test **cobas**® BKV a été déterminée en analysant des échantillons de plasma EDTA négatifs pour le BKV issus de donneurs individuels. 104 échantillons de plasma EDTA individuels ont été testés avec trois lots de réactifs du test **cobas**® BKV. Tous les échantillons se sont révélés négatifs pour l'ADN du BKV. Dans le panel de test, la spécificité du test **cobas**® BKV était de 100 % (intervalle de confiance unilatéral à 95 % inférieur : 97,16 %).

## Spécificité analytique

La spécificité analytique du test **cobas**® BKV a été évaluée en testant un panel de microorganismes à une concentration de 1,00E+06 unités/mL (UFC/mL, cellules/mL, UCC/mL, IFU/mL) pour les bactéries et les levures et entre 1,00E+05 unités/mL et 1,00E+06 unités/mL (copies/mL, DICT<sub>50</sub>/mL, UI/mL, cellules/mL) pour les virus. Les microorganismes ont été dilués dans du plasma EDTA humain négatif pour l'ADN du BKV ainsi que dans du plasma EDTA humain contenant de l'ADN de BKV (100 UI/mL). Les organismes spécifiques testés sont répertoriés dans le Tableau 20. Chaque échantillon a été testé en réplicats de trois. Aucun des agents pathogènes non-BKV n'a provoqué d'interférence avec les performances du test aux concentrations testées. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas**® BKV pour tous les échantillons de microorganismes sans cible BKV et des résultats positifs ont été obtenus pour tous les échantillons de microorganismes avec cible BKV. En outre, le titre moyen log<sub>10</sub> de chacun des échantillons positifs pour BKV contenant des organismes pouvant provoquer une réaction croisée était compris dans un intervalle de  $\pm 0,5$  log<sub>10</sub> du titre moyen log<sub>10</sub> du contrôle dopé positif respectif.

**Tableau 20** Micro-organismes dont la réactivité croisée a été testée

| <b>Virus</b>                          | <b>Bactéries</b>                  | <b>Levure</b>                  |
|---------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| Adénovirus type 5                     | <i>Propionibacterium acnes</i>    | <i>Aspergillus niger</i>       |
| Cytomégalovirus                       | <i>Staphylococcus aureus</i>      | <i>Candida albicans</i>        |
| Virus d'Epstein-Barr                  | <i>Chlamydia trachomatis</i>      | <i>Cryptococcus neoformans</i> |
| Virus de l'hépatite B                 | <i>Clostridium perfringens</i>    | -                              |
| Virus de l'hépatite C                 | <i>Enterococcus faecalis</i>      | -                              |
| Virus de l'herpès simplex de type 1   | <i>Escherichia coli</i>           | -                              |
| Virus de l'herpès simplex de type 2   | <i>Klebsiella pneumoniae</i>      | -                              |
| Virus de l'herpès humain de type 6    | <i>Listeria monocytogenes</i>     | -                              |
| Virus de l'herpès humain de type 7    | <i>Mycobacterium avium</i>        | -                              |
| Virus de l'herpès humain de type 8    | <i>Neisseria gonorrhoeae</i>      | -                              |
| Virus de l'immunodéficience humaine 1 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | -                              |
| Virus de l'immunodéficience humaine 2 | <i>Streptococcus pyogenes</i>     | -                              |
| Papillomavirus humain                 | <i>Mycoplasma pneumoniae</i>      | -                              |
| Virus JC                              | <i>Salmonella enterica</i>        | -                              |
| Parvovirus B19                        | <i>Streptococcus pneumoniae</i>   | -                              |
| Virus simien 40                       | -                                 | -                              |
| Virus varicelle-zona                  | -                                 | -                              |

## Spécificité analytique - substances interférentes

Des niveaux élevés de triglycérides (33 g/L), de bilirubine conjuguée (0,2 g/L), de bilirubine non conjuguée (0,2 g/L), d'albumine (60 g/L), d'hémoglobine (2 g/L) et d'ADN humain (2 mg/L) dans les échantillons ont été testés en présence (100 UI/mL) et en l'absence d'ADN du BKV. Il a été démontré que les interférences endogènes testées n'ont pas d'effet sur les performances du test **cobas®** BKV.

De plus, les composés médicamenteux répertoriés au Tableau 21 ont été testés à trois fois la  $C_{\max}$  en présence et en l'absence d'ADN du BKV.

Il a été démontré qu'aucune substance potentiellement interférente n'affecte les performances du test. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas®** BKV pour tous les échantillons sans cible BKV et des résultats positifs ont été obtenus pour tous les échantillons avec cible BKV. En outre, le titre moyen  $\log_{10}$  de chacun des échantillons positifs pour BKV contenant des substances potentiellement interférentes était compris dans un intervalle de  $\pm 0,5 \log_{10}$  du titre moyen  $\log_{10}$  du contrôle dopé positif respectif.

**Tableau 21** Composés médicamenteux dont l'interférence avec la quantification de l'ADN du BKV par le test **cobas®** BKV a été testée

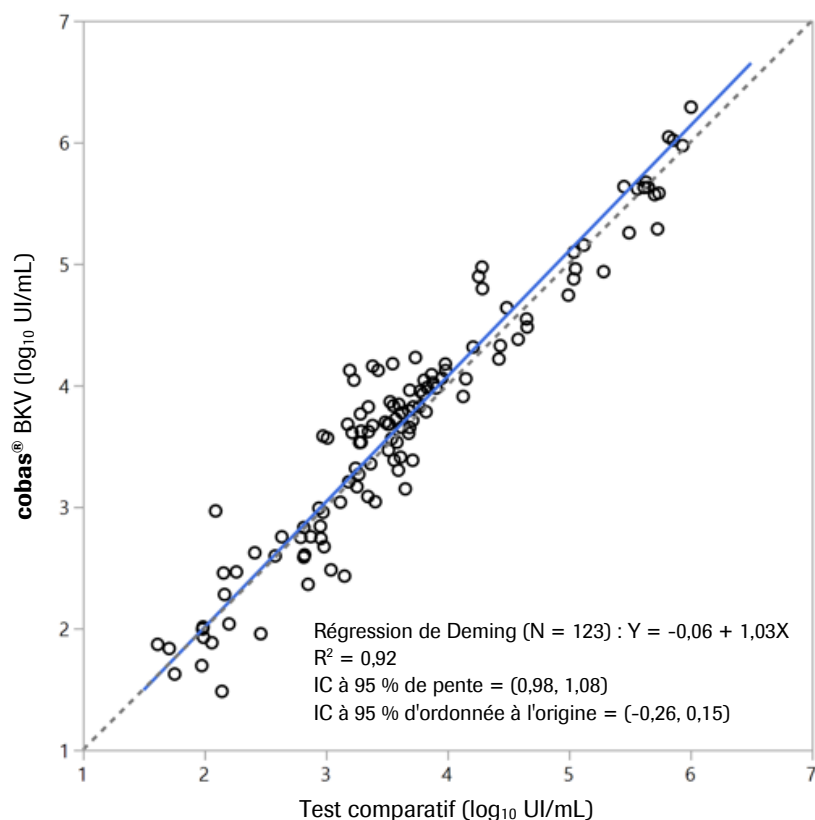
| Catégorie de médicament                          | Nom du médicament générique |                      |
|--------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------|
| Antimicrobien                                    | Céfotétan                   | Sulfaméthoxazole     |
|                                                  | Clavulanate de potassium    | Ticarcline disodique |
|                                                  | Fluconazole                 | Triméthoprim         |
|                                                  | Pipéracilline               | Vancomycine          |
|                                                  | Tazobactam de sodium        | Micafungine          |
| Composés pour le traitement de virus de l'herpès | Ganciclovir                 | Cidofovir            |
|                                                  | Valganciclovir              | Foscarnet            |
|                                                  | Aciclovir                   | Letermovir           |
| Immunosuppresseur                                | Azathioprine                | Prednisone           |
|                                                  | Cyclosporine                | Sirolimus            |
|                                                  | Évérolimus                  | Tacrolimus           |
|                                                  | Mofétilmycophénolate        | Acide mycophénolique |

## Corrélation de la méthode

Les performances du test **cobas®** BKV ont été évaluées par rapport à un test comparatif en analysant des échantillons de plasma EDTA issus de patients infectés par le BKV. Des échantillons de plasma EDTA, compris dans le domaine de quantification des deux tests, ont été testés en tant que réplicats uniques. L'analyse de la régression de Deming a été réalisée.

Les résultats de la régression de Deming sont indiqués dans la Figure 6.



**Figure 6** Analyse de régression comparative du test **cobas®** BKV et d'un test comparatif

## Échec complet du système

Le taux d'échec complet du système pour le test **cobas®** BKV a été déterminé en testant 100 répliquats de plasma EDTA dopés avec un échantillon clinique positif pour le BKV. Ces échantillons ont été testés à une concentration égale à  $3 \times$  la LoD.

D'après les résultats de cette étude, tous les répliquats étaient valides et positifs pour la cible BKV. Le taux d'échec complet du système est donc de 0 % (intervalle de confiance unilatéral à 95 % supérieur : 2,95 %).

## Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le test **cobas®** BKV a été déterminé en testant 240 répliquats d'un échantillon de matrice négatif pour le BKV et 225 répliquats d'un échantillon d'ADN du BKV de titre élevé à environ  $2,00E+07$  UI/mL. Au total, cinq runs ont été exécutés avec des échantillons positifs et négatifs en configuration de damier.

Les 240 répliquats de l'échantillon négatif étaient tous négatifs, soit un taux de contamination croisée de 0 % (intervalle de confiance unilatéral à 95 % supérieur : 1,24 %).

## Principales caractéristiques de performance pour le type d'échantillon urine

### Limite de détection (LoD) pour le standard international de l'OMS

La limite de détection du test **cobas**® BKV pour le standard international de l'OMS a été déterminée par l'analyse de dilutions en série du 1<sup>er</sup> standard international BKV de l'OMS, obtenu auprès du NIBSC (NIBSC 14/212), dans de l'urine poolée stabilisée dans le **cobas**® PCR Media négative pour le BKV. Des panels de six niveaux de concentration plus un échantillon blanc ont été testés sur trois lots de réactifs du test **cobas**® BKV, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments.

Les résultats pour l'urine poolée stabilisée dans le **cobas**® PCR Media sont indiqués du Tableau 22 au Tableau 24. Cette étude démontre qu'avec le lot le moins sensible, la concentration pour laquelle un taux de succès de 95 % est attendu avec PROBIT est de 12,2 UI/mL avec un intervalle de confiance à 95 % de 9,2 à 18,3 UI/mL dans l'urine pure. La concentration la plus faible avec un taux de succès  $\geq 95$  % est 10,0 UI/mL dans l'urine pure.

**Tableau 22** Limite de détection dans l'urine, lot 1

| Concentration de titre d'entrée (ADN du BKV, UI/mL)*       | Nb de répliquats valides                                      | Nb de positifs | Taux de succès en % |
|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------|---------------------|
| 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                 |
| Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT | 12,2 UI/mL<br>Intervalle de confiance à 95 % : 9,2-18,3 UI/mL |                |                     |

\* Échantillons testés d'urine stabilisée dans le **cobas**® PCR Media. Concentration de titre d'entrée utilisée pour le calcul sur la base de l'urine pure.

**Tableau 23** Limite de détection dans l'urine, lot 2

| Concentration de titre d'entrée (ADN du BKV, UI/mL)*       | Nb de réplicats valides                                       | Nb de positifs | Taux de succès en % |
|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------|---------------------|
| 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                 |
| Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT | 11,9 UI/mL<br>Intervalle de confiance à 95 % : 9,2-17,3 UI/mL |                |                     |

\* Échantillons testés d'urine stabilisée dans le **cobas**® PCR Media. Concentration de titre d'entrée utilisée pour le calcul sur la base de l'urine pure.

**Tableau 24** Limite de détection dans l'urine, lot 3

| Concentration de titre d'entrée (ADN du BKV, UI/mL)*       | Nb de réplicats valides                                       | Nb de positifs | Taux de succès en % |
|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------|---------------------|
| 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                 |
| Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT | 10,1 UI/mL<br>Intervalle de confiance à 95 % : 7,8-14,7 UI/mL |                |                     |

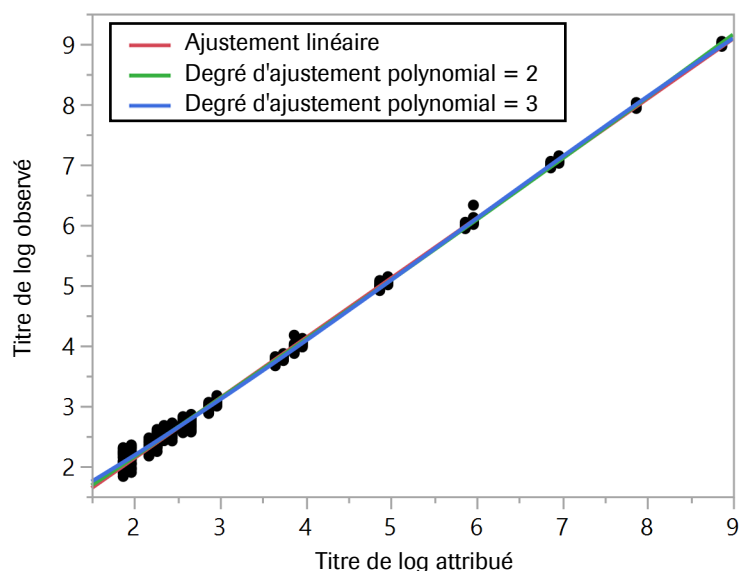
\* Échantillons testés d'urine stabilisée dans le **cobas**® PCR Media. Concentration de titre d'entrée utilisée pour le calcul sur la base de l'urine pure.

## Domaine de linéarité

La linéarité du test **cobas**® BKV a été évaluée à l'aide de dilutions en séries constituées de 10 membres de panel utilisant un échantillon clinique (sous-groupe Ib du BKV) couvrant le domaine de linéarité du test. Un stock d'ADN lambda de titre élevé a été utilisé pour préparer 12 membres de panel couvrant l'ensemble du domaine de linéarité.

Chaque membre du panel a été testé en 36 réplicats sur trois lots de réactifs du test **cobas**® BKV et les résultats de l'étude sont présentés dans la Figure 7.

Il a été démontré que le test **cobas**® BKV est linéaire de 7,41E+01 UI/mL à 7,41E+08 UI/mL et présente une déviation absolue par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement inférieure ou égale à  $\pm 0,1 \log_{10}$  dans l'urine poolée stabilisée dans le **cobas**® PCR Media (voir Figure 7). Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à  $\pm 0,2 \log_{10}$ .

**Figure 7** Détermination du domaine de linéarité dans l'urine

## Précision intra-laboratoire

La précision du test **cobas®** BKV a été déterminée en analysant des dilutions en série d'ADN du BKV de titre élevé (sous-groupe Ib) dans de l'urine poolée stabilisée dans le **cobas®** PCR Media négative pour le BKV. Cinq niveaux de dilution ont été testés en 72 réplicats pour chaque niveau sur trois lots de réactifs du test **cobas®** BKV par deux opérateurs, sur deux instruments, pendant 12 jours. Chaque échantillon a subi la procédure entière du test **cobas®** BKV sur des systèmes **cobas®** 6800/8800 entièrement automatisés. La précision indiquée plus bas prend donc en compte tous les aspects de la procédure de test. Les résultats sont présentés dans le Tableau 25.

Le test **cobas®** BKV a présenté une précision élevée pour trois lots de réactifs testés sur une plage de concentration de 7,41E+02 UI/mL à 7,41E+05 UI/mL.

**Tableau 25** Précision intra-laboratoire du test **cobas®** BKV\*

| Concentration nominale [UI/mL] | Concentration attribuée [UI/mL] | Urine stabilisée dans le <b>cobas®</b> PCR Media |          |          |               |
|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|----------|----------|---------------|
|                                |                                 | Lot n° 1                                         | Lot n° 2 | Lot n° 3 | Tous les lots |
|                                |                                 | ET                                               | ET       | ET       | DS globale    |
| 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          |

\* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de  $\log_{10}$ . Les colonnes d'écart-type (ET) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

## Vérification de sous-type

Les performances du test **cobas**® BKV sur les sous-types I (avec les sous-groupes Ia et Ic), II, III et IV de BKV ont été évaluées par :

- Vérification de la limite de détection
- Vérification du domaine de linéarité

### Vérification de la limite de détection pour les sous-types I (avec les sous-groupes Ia et Ic), II, III et IV

L'ADN du BKV pour les cinq différents sous-types/sous-groupes (Ia, Ic, II, III et IV) a été dilué à trois niveaux de concentration différents dans de l'urine poolée stabilisée dans le **cobas**® PCR Media négative pour le BKV. Le taux de succès a été déterminé avec 63 réplicats pour chaque niveau. Les tests ont été effectués avec trois lots de réactifs du test **cobas**® BKV, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments. Ces résultats démontrent que le test **cobas**® BKV a détecté l'ADN du BKV pour cinq différents sous-types/sous-groupes à des concentrations de 12,2 UI/mL avec un taux de succès  $\geq 95$  %.

### Vérification du domaine de linéarité pour les sous-types I (avec les sous-groupes Ia et Ic), II, III et IV

La série de dilutions utilisée dans la vérification de l'étude de linéarité des sous-types/sous-groupes du test **cobas**® BKV comprenait huit membres de panel couvrant le domaine de linéarité du test. Les tests ont été effectués avec trois lots de réactifs du test **cobas**® BKV ; 12 réplicats par niveau ont été testés dans de l'urine stabilisée dans le **cobas**® PCR Media.

Le domaine de linéarité du test **cobas**® BKV a été vérifié pour les cinq sous-types/sous-groupes (Ia, Ic, II, III et IV).

## Spécificité

La spécificité du test **cobas**® BKV a été déterminée en analysant des échantillons urinaires stabilisés dans le **cobas**® PCR Media négatifs pour le BKV issus de donneurs individuels. Cent échantillons urinaires individuels ont été testés avec trois lots de réactifs du test **cobas**® BKV. Tous les échantillons se sont révélés négatifs pour l'ADN du BKV. Dans le panel de test, la spécificité du test **cobas**® BKV était de 100 % (intervalle de confiance unilatéral à 95 % inférieur : 97,05 %).

## Spécificité analytique

La spécificité analytique du test **cobas**® BKV a été évaluée en testant un panel de microorganismes à une concentration entre 1,00E+06 unités/mL et 2,00E+06 unités/mL (UFC/mL, cellules/mL, UCC/mL, IFU/mL) pour les bactéries et les levures et de 1,00E+05 unités/mL (copies/mL, DICT<sub>50</sub>/mL, UI/mL, cellules/mL) pour les virus. Les microorganismes ont été dilués dans de l'urine négative pour l'ADN du BKV ainsi que dans de l'urine contenant de l'ADN de BKV (600 UI/mL). Les organismes spécifiques testés sont répertoriés dans le Tableau 26. Chaque échantillon a été testé en réplicats de trois. Aucun des agents pathogènes non-BKV n'a provoqué d'interférence avec les performances du test aux concentrations testées. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas**® BKV pour tous les échantillons de microorganismes sans cible BKV et des résultats positifs ont été obtenus pour tous les échantillons de microorganismes avec cible BKV. En outre, le titre moyen log<sub>10</sub> de chacun des échantillons positifs pour BKV contenant des organismes pouvant provoquer une réaction croisée était compris dans un intervalle de  $\pm 0,5$  log<sub>10</sub> du titre moyen log<sub>10</sub> du contrôle dopé positif respectif.

**Tableau 26** Micro-organismes dont la réactivité croisée a été testée

| Virus                       | Bactéries                          | Bactéries                            | Levure                      |
|-----------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| Virus de l'herpès simplex-2 | <i>Bacillus cereus</i>             | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>        | <i>Candida albicans</i>     |
| Papillomavirus humain 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>         | -                                    | -                           |

## Spécificité analytique - substances interférentes

Des niveaux élevés d'albumine (0,5 % p/v), de bilirubine conjuguée (1 % p/v), de glucose (1 % p/v), de cellules mono-nucléées de sang périphérique (1,00E+06 cellules/mL), de mucus (en présence d'un écouvillon de mucus pour 4,3 mL d'échantillon), de pH acide (pH 4), de pH alcalin (pH 9), de sperme (1 écouvillon plongé dans le sperme pour 4,3 mL d'échantillon), de sodium (300 mEq/L) et de sang total (10 % v/v) dans les échantillons ont été testés en présence (600 UI/mL) et en l'absence d'ADN du BKV. Il a été démontré que les interférences endogènes testées n'ont pas d'effet sur les performances du test **cobas®** BKV.

De plus, les composés médicamenteux répertoriés au Tableau 27 ont été testés en présence et en l'absence d'ADN du BKV.

Il a été démontré qu'aucune substance potentiellement interférente, à l'exception du talc, n'affecte les performances du test. Le talc à raison de  $\leq 0,05$  % n'a présenté aucune interférence avec le **cobas®** BKV. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas®** BKV pour tous les échantillons sans cible BKV et des résultats positifs ont été obtenus pour tous les échantillons avec cible BKV. En outre, le titre moyen  $\log_{10}$  de chacun des échantillons positifs pour BKV contenant des substances potentiellement interférentes était compris dans un intervalle de  $\pm 0,5 \log_{10}$  du titre moyen  $\log_{10}$  du contrôle dopé positif respectif.

**Tableau 27** Composés médicamenteux dont l'interférence avec la quantification de l'ADN du BKV par le test **cobas®** BKV a été testée

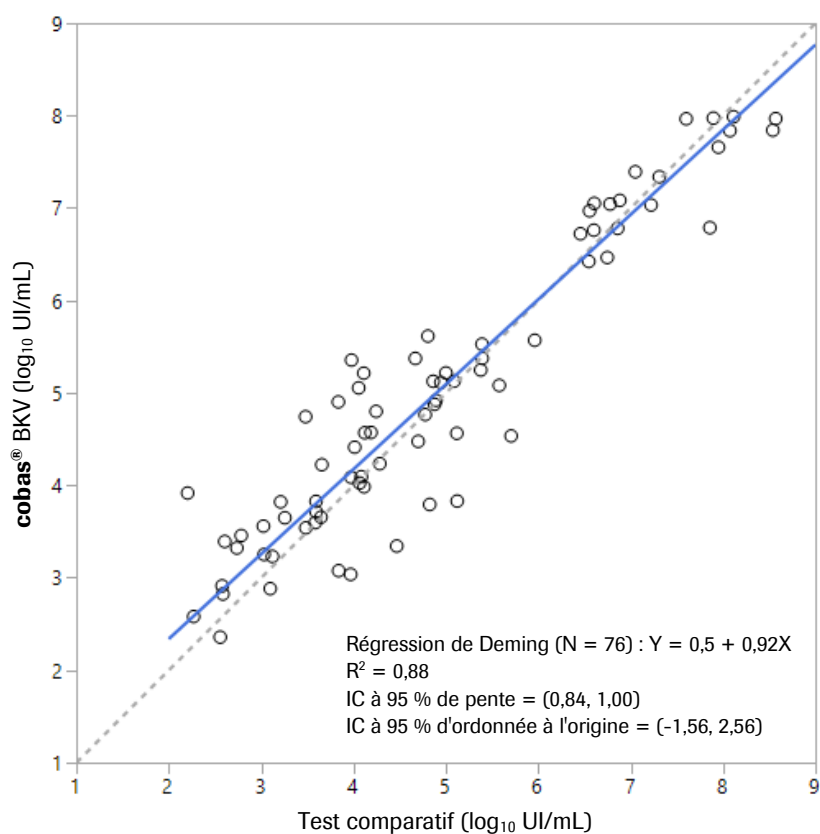
| Catégorie de médicament           | Principe actif                  | Concentration | Nom du médicament générique                                  |
|-----------------------------------|---------------------------------|---------------|--------------------------------------------------------------|
| Antimicrobien                     | Clotrimazole                    | 100 µg/mL     | Gyne-Lotrimin 7                                              |
|                                   | métronidazole                   | 701 µmol/L    | Arilin<br>Ovules vaginaux<br>Crème Vagi-Metro<br>Gel Nidazea |
| Hormone stéroïde œstrogène        | Œstradiol                       | 4,41 nmol/L   | Estrace                                                      |
| Analgésiques                      | Chlorhydrate de phénazopyridine | 200 µg/mL     | Azo Standard                                                 |
|                                   | Acétaminophène                  | 1324 µmol/L   | Acétaminophène                                               |
| Lubrifiant                        | Propylène glycol                | 1000 µg/mL    | K-Y UltraGel                                                 |
| Anti-inflammatoire non stéroïdien | Acide acétylsalicylique         | 3,62 mmol/L   | Acide acétylsalicylique                                      |
|                                   | Naproxène                       | 2170 µmol/L   | Naproxène                                                    |
|                                   | Ibuprofène                      | 2425 µmol/L   | Ibuprofène                                                   |
| Sans objet                        | Talc                            | 0,05 % (p/v)  | Talc                                                         |

## Corrélation de la méthode

Les performances du test **cobas®** BKV ont été évaluées par rapport à un test comparatif en analysant des échantillons urinaires issus de patients infectés par le BKV. Des échantillons urinaires, compris dans le domaine de quantification des deux tests, ont été testés en tant que répliquats uniques. L'analyse de la régression de Deming a été réalisée.

Les résultats de la régression de Deming sont indiqués dans la Figure 8.

**Figure 8** Analyse de régression comparative du test **cobas®** BKV et d'un test comparatif



## Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le test **cobas®** BKV a été déterminé en testant 240 répliquats d'un échantillon de matrice négatif pour le BKV et 225 répliquats d'un échantillon d'ADN du BKV de titre élevé à environ  $1,00E+09$  UI/mL. Au total, cinq runs ont été exécutés avec des échantillons positifs et négatifs en configuration de damier.

Les 240 répliquats de l'échantillon négatif étaient tous négatifs, soit un taux de contamination croisée de 0,0 % (intervalle de confiance unilatéral à 95 % supérieur : 1,24 %).



# Évaluation des performances cliniques

## Reproductibilité du test cobas® BKV pour les échantillons de plasma EDTA

La reproductibilité du test cobas® BKV a été évaluée pour différents facteurs (lot de réactifs, site d'analyse, série et jours de test) qui pourraient affecter les résultats rapportés pour les tests cliniques de routine. L'évaluation a été menée sur 3 sites d'analyse à l'aide de 3 lots de réactifs, avec un panel d'échantillons négatifs et positifs pour un nombre total de 270 tests par concentration (sans inclure les contrôles). Les panels étaient composés d'échantillons de plasma EDTA négatifs pour les IgG dirigés contre le VCA du BKV et ont été testés pour détecter la présence de BKV à l'aide d'un protocole de libération des acides nucléiques du plasma, et dopés par de l'ADN du standard international de l'OMS pour le BKV ou de l'ADN viral du génotype Ib de BKV (génotype le plus fréquent) en culture. Deux opérateurs sur chaque site ont testé chaque lot de réactifs pendant 5 jours. Deux runs (1 run = 1 série ; 1 série = 1 panel + 3 contrôles) ont été réalisés chaque jour et 3 réplicats de chaque membre de panel ont été réalisés pour chaque run. Les résultats de l'évaluation sont présentés dans le Tableau 28.

**Tableau 28** Pourcentage attribuable de la variance totale (%VT), écart-type (ET) de précision totale et CV log-normal (%) de concentration d'ADN du BKV (log<sub>10</sub> UI/mL) par membre de panel positif

| Concentration attendue de l'ADN de BKV (log <sub>10</sub> UI/mL) | Concentration moyenne observée <sup>a</sup> de l'ADN de BKV (log <sub>10</sub> UI/mL) | Nombre de tests <sup>b</sup> | Lot %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup> | Site %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup> | Jour/opérateur %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup> | Série %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup> | Intra-série %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup> | Précision totale ET <sup>e</sup> | Précision totale CV log-normal (%) <sup>d</sup> |
|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------|
| 1,81                                                             | 1,74                                                                                  | 270                          | 9 %<br>(20,63)                          | 6 %<br>(17,69)                           | 0 %<br>(0,00)                                      | 7 %<br>(19,15)                            | 78 %<br>(68,05)                                 | 0,304                            | 79,43                                           |
| 3,70                                                             | 3,52                                                                                  | 270                          | 10 %<br>(9,79)                          | 10 %<br>(9,57)                           | 14 %<br>(11,44)                                    | 25 %<br>(15,16)                           | 40 %<br>(19,38)                                 | 0,131                            | 30,91                                           |
| 4,70                                                             | 4,51                                                                                  | 270                          | 3 %<br>(4,42)                           | 24 %<br>(13,46)                          | 0 %<br>(0,00)                                      | 56 %<br>(20,58)                           | 17 %<br>(11,27)                                 | 0,118                            | 27,71                                           |
| 5,70                                                             | 5,54                                                                                  | 270                          | 7 %<br>(5,66)                           | 28 %<br>(11,50)                          | 0 %<br>(0,00)                                      | 40 %<br>(13,85)                           | 25 %<br>(10,84)                                 | 0,094                            | 21,94                                           |
| 7,70                                                             | 7,62                                                                                  | 269                          | 4 %<br>(3,27)                           | 49 %<br>(11,00)                          | 0 %<br>(0,00)                                      | 13 %<br>(5,60)                            | 34 %<br>(9,10)                                  | 0,068                            | 15,74                                           |

<sup>a</sup> Calculée à l'aide de la procédure SAS MIXED.

<sup>b</sup> Nombre de tests valides avec niveau d'ADN détectable.

<sup>c</sup> %VT = Pourcentage de contribution à la variance totale.

<sup>d</sup> CV% = Coefficient de variation en pourcentage log-normal =  $\frac{10^{ET^2 \times \ln(10)} - 1}{2} \times 100$ .

<sup>e</sup> Calculé à l'aide de la variabilité totale à partir de la procédure SAS MIXED.

Remarque : le tableau inclut uniquement les résultats présentant un niveau d'ADN détectable. ET = écart-type ; CV = coefficient de variation ; BKV = virus BK.

Le test **cobas®** BKV a montré une reproductibilité clinique acceptable pour différentes concentrations sur l'ensemble du domaine de linéarité. En outre, le système a détecté 100 % des échantillons  $3 \times \text{LLOQ}$ . Les systèmes **cobas®** 6800 et **cobas®** 8800 ont en commun une conception modulaire et ont obtenu des performances équivalentes lors de l'utilisation du test **cobas®** BKV. Toutes les limites de confiance (LC) à 95 % estimées pour la différence entre deux mesures d'échantillons issus du même sujet étaient comprises dans un intervalle de  $\pm 0,84 \log_{10} \text{ UI/mL}$ , ce qui indique que le test permet d'évaluer des variations des niveaux d'ADN de BKV considérées comme cliniquement significatives.

Sur les 270 tests valides pour les membres du panel négatifs réalisés sur les systèmes **cobas®** 6800/8800, tous les échantillons ont obtenu un résultat « Target Not Detected ». Le pourcentage de corrélation négative (PCN) était donc de 100 % avec un IC exact à 95 % allant de 98,6 % à 100 %.

## Performance du test **cobas®** BKV pour les échantillons de plasma EDTA

La performance clinique du test **cobas®** BKV a été évaluée plus avant sur trois sites d'analyse en mesurant les niveaux d'ADN du BKV dans des échantillons cliniques (purs et dilués) de patients infectés et non infectés par le BKV et des échantillons de plasma EDTA artificiels dopés avec du BKV en culture, comparativement à un test sur acides nucléiques développé en laboratoire (TDL) bien établi (TDL BKV comparatif). Sur l'ensemble des échantillons analysés avec le test **cobas®** BKV et le test comparatif BKV, 550 échantillons au total (217 échantillons cliniques purs et 303 échantillons cliniques dilués issus de 129 sujets transplantés et 30 échantillons artificiels) étaient valides pour les deux tests et évaluables pour l'analyse de concordance clinique (Tableau 29).

**Tableau 29** Analyse de concordance entre les résultats des niveaux d'ADN de BKV obtenus avec le test **cobas®** BKV et le TDL comparatif pour l'ensemble des échantillons

| <b>cobas®</b> BKV<br>( $\log_{10} \text{ UI/mL}$ ) | TDL BKV<br>comparatif<br>( $\log_{10} \text{ UI/mL}$ )<br>Target Not<br>Detected | TDL BKV<br>comparatif<br>( $\log_{10} \text{ UI/mL}$ )<br>< LLoQ<br>(< 2,3) | TDL BKV<br>comparatif<br>( $\log_{10} \text{ UI/mL}$ )<br>2,3 à < 3,0 | TDL BKV<br>comparatif<br>( $\log_{10} \text{ UI/mL}$ )<br>3,0 à < 3,7 | TDL BKV<br>comparatif<br>( $\log_{10} \text{ UI/mL}$ )<br>3,7 à 4,4 | TDL BKV<br>comparatif<br>( $\log_{10} \text{ UI/mL}$ )<br>> 4,4 | Total |
|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------|
| Target Not Detected                                | 107                                                                              | 7                                                                           | 5                                                                     | 0                                                                     | 0                                                                   | 0                                                               | 119   |
| < LLoQ (< 2,3)                                     | 23                                                                               | 51                                                                          | 39                                                                    | 0                                                                     | 0                                                                   | 0                                                               | 113   |
| 2,3 à < 3,0                                        | 0                                                                                | 3                                                                           | 40                                                                    | 62                                                                    | 1                                                                   | 0                                                               | 106   |
| 3,0 à < 3,7                                        | 0                                                                                | 0                                                                           | 1                                                                     | 71                                                                    | 42                                                                  | 0                                                               | 114   |
| 3,7 à 4,4                                          | 0                                                                                | 0                                                                           | 0                                                                     | 0                                                                     | 26                                                                  | 26                                                              | 52    |
| > 4,4                                              | 0                                                                                | 0                                                                           | 0                                                                     | 0                                                                     | 1                                                                   | 45                                                              | 46    |
| Total                                              | 130                                                                              | 61                                                                          | 85                                                                    | 133                                                                   | 70                                                                  | 71                                                              | 550   |
| Corrélation de<br>colonne (%)                      | (130/130)<br>100,0 %                                                             | (61/61)<br>100,0 %                                                          | (80/85)<br>94,1 %                                                     | (133/133)<br>100,0 %                                                  | (69/70)<br>98,6 %                                                   | (71/71)<br>100,0 %                                              | -     |
| (Résultat IC à 95 %) <sup>a</sup>                  | (97,1 %, 100 %)                                                                  | (94,1 %, 100,0 %)                                                           | (87,0 %, 97,5 %)                                                      | (97,2 %, 100,0 %)                                                     | (92,3 %, 99,7 %)                                                    | (94,9 %, 100,0 %)                                               | -     |

Remarque : IC = intervalle de confiance ; LLoQ = limite de quantification inférieure du TDL BKV comparatif ( $200 \text{ UI/mL} = 2,3 \log_{10} \text{ UI/mL}$ ). Écart-type du TDL BKV comparatif estimé à  $0,37 \log_{10} \text{ UI/mL}$  (d'après l'étude de précision analytique du TDL BKV de l'université de l'Indiana). Une concentration d'analyte de  $3,0 \log_{10} \text{ UI/mL}$  représentait une  $\text{LLOQ} + 2\sigma$ ,  $3,7 \log_{10} \text{ UI/mL}$  représentait une  $\text{LLOQ} + 4\sigma$  et  $4,4 \log_{10} \text{ UI/mL}$  représentait une  $\text{LLOQ} + 6\sigma$  avec une plage d'intervalle de  $2\sigma$ . Les échantillons appariés évaluables pour l'analyse de concordance clinique ont été inclus dans ce tableau.

<sup>a</sup> Indépendance supposée entre tous les échantillons.

Les résultats discordants ont été définis comme ceux situés à plus d'une case de la diagonale (ombrés). Pour les résultats « Target Not Detected » (TND) par corrélation de colonne du TDL, les cellules « Target Not Detected » et < LLoQ (< 2,3) pour le test **cobas**® BKV ont été combinées. La raison justifiant l'ajout des cellules adjacentes < LLoQ et TND pour la colonne TND réside dans le fait que la différence entre un résultat TND et < LLoQ n'est pas cliniquement significative et qu'ils se trouvent analytiquement à la limite inférieure de la plage de mesures, pouvant être impactée par une erreur aléatoire.

Sur les 43 échantillons négatifs pour l'ADN du BKV prélevés pour l'estimation du PCN avec le test **cobas**® BKV, tous ont obtenu un résultat négatif au test **cobas**® BKV. Le PCN était donc de 100 % avec un IC exact à 95 % allant de 91,8 % à 100 %.

La concordance entre le test **cobas**® BKV et le TDL BKV comparatif a également été évaluée en utilisant différents seuils cliniques (Tableau 30).

**Tableau 30** Récapitulatif de la concordance du test **cobas**® BKV et du TDL BKV comparatif en utilisant différents seuils pour l'ensemble des échantillons

| Seuils*                            | Pourcentage de corrélation<br>< seuil<br>IC à 95 %<br>(n/N) | Pourcentage de corrélation<br>≥ seuil<br>IC à 95 %<br>(n/N) |
|------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Target Not Detected                | 82,3 % (107/130)<br>(74,8 %, 87,9 %)                        | 97,1 % (408/420)<br>(95,1 %, 98,4 %)                        |
| LLoQ (2,3 log <sub>10</sub> UI/mL) | 98,4 % (188/191)<br>(95,5 %, 99,5 %)                        | 87,7 % (315/359)<br>(83,9 %, 90,7 %)                        |
| 3,0 log <sub>10</sub> UI/mL        | 99,6 % (275/276)<br>(98,0 %, 99,9 %)                        | 77,0 % (211/274)<br>(71,7 %, 81,6 %)                        |
| 4,0 log <sub>10</sub> UI/mL        | 100,0 % (447/447)<br>(99,1 %, 100,0 %)                      | 67,0 % (69/103)<br>(57,4 %, 75,3 %)                         |

Remarque : Les échantillons présentant des résultats « Target Not Detected » ont été catégorisés comme « < à la valeur seuil en UI/mL ».

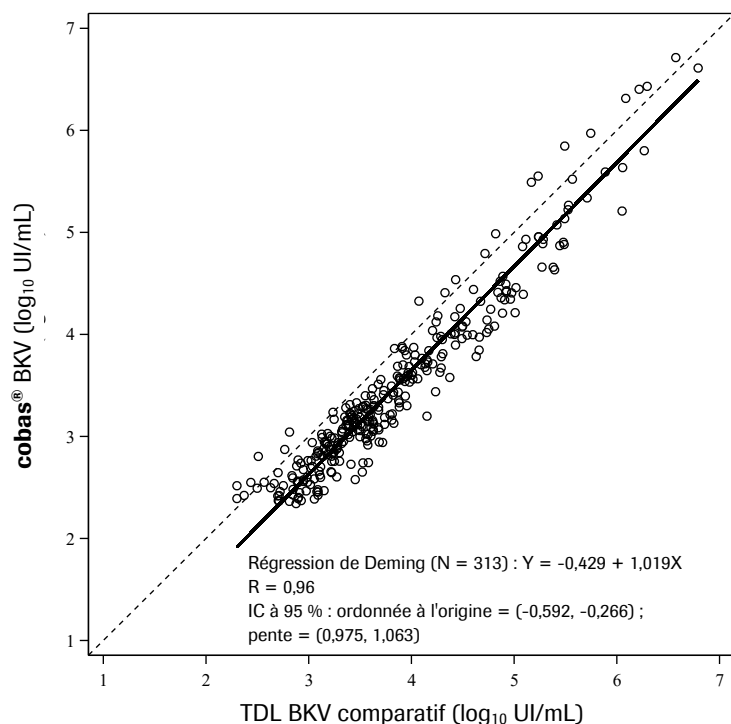
LLoQ = limite de quantification inférieure du TDL BKV comparatif (200 UI/mL = 2,3 log<sub>10</sub> UI/mL).

L'intervalle de confiance (IC) à 95 % a été calculé à l'aide de la méthode de Score en supposant une indépendance entre tous les échantillons.

\* Seuils de 1 000 UI/mL = 3,0 log<sub>10</sub> UI/mL et 10 000 UI/mL = 4,0 log<sub>10</sub> UI/mL.

Sur l'ensemble des échantillons analysés avec le test **cobas**® BKV qui étaient positifs au BKV avec le test comparatif BKV, 313 échantillons au total (133 échantillons cliniques purs et 159 échantillons cliniques dilués issus de 68 sujets transplantés et 21 échantillons artificiels) étaient évaluables pour l'analyse de corrélation sur les trois sites d'analyse (Figure 9).

**Figure 9** Corrélation entre le test **cobas®** BKV et le TDL BKV comparatif pour l'ensemble des échantillons : graphique de régression linéaire de Deming des niveaux d'ADN ( $\log_{10}$  UI/mL)



Une analyse supplémentaire du graphique de biais concernant les différences des niveaux d'ADN a indiqué une différence systématique entre les deux tests, constante sur l'ensemble du domaine de linéarité de chevauchement. L'IC à 95 % de l'ordonnée à l'origine de la droite ajustée des graphiques de biais allait de -0,404 à -0,168, ce qui est compris dans l'intervalle de  $\pm 0,74 \log_{10}$  UI/mL ( $\pm 2$  fois l'écart-type de précision analytique du TDL BKV comparatif). En outre, le biais moyen a été estimé à  $-0,357 \log_{10}$  UI/mL et, d'après l'équation de la droite ajustée des graphiques de biais, la différence systématique entre les deux tests était de  $-0,343 \log_{10}$  UI/mL et de  $-0,362 \log_{10}$  UI/mL pour les échantillons contenant des niveaux d'ADN à 3 et 4  $\log_{10}$  UI/mL, respectivement.

## Reproductibilité du test **cobas®** BKV pour les échantillons d'urine stabilisée

La reproductibilité du test **cobas®** BKV a été évaluée pour différents facteurs (lot de réactifs, site d'analyse, série et jours de test) qui pourraient affecter les résultats rapportés pour les tests cliniques de routine. L'évaluation a été menée sur 3 sites d'analyse à l'aide de 3 lots de réactifs, avec un panel d'échantillons négatifs et positifs pour un nombre total de 270 tests par concentration (sans inclure les contrôles). Les panels étaient composés d'échantillons d'urine stabilisée avec le **cobas®** PCR Media ayant été confirmés négatifs pour la présence d'ADN de BKV au moyen d'un protocole de libération des acides nucléiques de l'urine et dopés par de l'ADN du standard international de l'OMS pour le BKV ou de l'ADN viral du génotype Ia de BKV en culture. Deux opérateurs sur chaque site ont testé chaque lot de réactifs pendant 5 jours. Deux runs (1 run = 1 série ; 1 série = 1 panel + 3 contrôles) ont été réalisés chaque jour et 3 réplicats de chaque membre de panel ont été réalisés pour chaque run. Les résultats de l'évaluation sont présentés dans le Tableau 31.

**Tableau 31** Pourcentage attribuable de la variance totale (%VT), écart-type (ET) de précision totale et CV log-normal (%) de concentration d'ADN du BKV ( $\log_{10}$  UI/mL) par membre de panel positif (urine stabilisée)

| Concentration d'ADN de BKV attendue | Concentration moyenne observée <sup>a</sup> de l'ADN de BKV | Nombre de tests <sup>b</sup> | Lot %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup> | Site %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup> | Jour/opérateur %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup> | Série %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup> | Intra-série %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup> | Précision totale ET <sup>e</sup> | Précision totale CV (%) <sup>d</sup> |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| 2,78                                | 2,92                                                        | 270                          | 59 %<br>(12,64)                         | 0 %<br>(1,15)                            | 0 %<br>(0,00)                                      | 0 %<br>(0,00)                             | 40 %<br>(10,41)                                 | 0,071                            | 16,47                                |
| 3,70                                | 3,78                                                        | 270                          | 47 %<br>(8,14)                          | 2 %<br>(1,62)                            | 8 %<br>(3,31)                                      | 0 %<br>(0,00)                             | 43 %<br>(7,72)                                  | 0,051                            | 11,83                                |
| 4,70                                | 4,80                                                        | 270                          | 38 %<br>(5,02)                          | 2 %<br>(1,28)                            | 6 %<br>(2,07)                                      | 0 %<br>(0,00)                             | 53 %<br>(5,96)                                  | 0,035                            | 8,17                                 |
| 5,70                                | 5,70                                                        | 270                          | 21 %<br>(3,12)                          | 0 %<br>(0,00)                            | 0 %<br>(0,00)                                      | 0 %<br>(0,00)                             | 79 %<br>(6,12)                                  | 0,030                            | 6,87                                 |
| 7,70                                | 7,69                                                        | 270                          | 2 %<br>(1,51)                           | 19 %<br>(4,84)                           | 6 %<br>(2,79)                                      | 0 %<br>(0,00)                             | 73 %<br>(9,53)                                  | 0,048                            | 11,17                                |

Remarque : le tableau inclut uniquement les résultats présentant un niveau d'ADN détectable. ET = écart-type ; CV = coefficient de variation, en pourcentage ; BKV = virus BK.

<sup>a</sup> Calculée à l'aide de la procédure SAS MIXED.

<sup>b</sup> Nombre de tests valides avec niveau d'ADN détectable.

<sup>c</sup> %VT = Pourcentage de contribution à la variance totale.

<sup>d</sup> CV% = Coefficient de variation en pourcentage log-normal =  $\frac{10^{[ET^2 \times \ln(10)]} - 1}{1} \times 100$ .

<sup>e</sup> Calculé à l'aide de la variabilité totale à partir de la procédure SAS MIXED.

Le test **cobas®** BKV a montré une reproductibilité clinique acceptable pour différentes concentrations sur l'ensemble du domaine de linéarité. En outre, le système a détecté 100 % des échantillons  $3 \times$  LLoQ. Les systèmes **cobas®** 6800 et **cobas®** 8800 ont en commun une conception modulaire et ont obtenu des performances équivalentes lors de l'utilisation du test **cobas®** BKV. Toutes les limites de confiance (LC) à 95 % estimées pour la différence entre deux mesures d'échantillons issus du même sujet étaient comprises dans un intervalle de  $\pm 0,20 \log_{10}$  UI/mL, ce qui indique que le test permet d'évaluer des variations des niveaux d'ADN de BKV considérées comme cliniquement significatives. Le système a montré un pourcentage de corrélation négative de 99,26 % avec un IC de 97,3 % à 99,9 %. Sur les 270 tests valides pour les membres du panel négatifs, 2 échantillons (0,74 %) ont présenté un niveau d'ADN indiquant une positivité < LLoQ. Des recherches plus approfondies sur ces résultats ont montré qu'ils n'étaient pas associés à un instrument, un site ou un lot de réactifs en particulier. Un séquençage supplémentaire de l'ADN a confirmé la présence de BKV. Les séquences de BKV identifiées étaient différentes de celles du contrôle positif et de la souche de BKV utilisée pour la préparation du panel, excluant ainsi une contamination pendant la préparation du panel et suggérant une virurie à l'état de trace dans l'un des 25 échantillons d'urine du pool d'échantillons d'urine utilisé pour la préparation du panel négatif.

## Performance du test cobas® BKV pour les échantillons d'urine stabilisée

La performance clinique du test cobas® BKV a été évaluée plus avant sur trois sites d'analyse en mesurant les niveaux d'ADN du BKV dans des échantillons cliniques d'urine de patients infectés et non infectés par le BKV stabilisés dans du cobas® PCR Media, comparativement à un TDL bien établi (TDL BKV comparatif).

Sur l'ensemble des échantillons analysés avec le test cobas® BKV et le test comparatif BKV, un total de 308 échantillons d'urine purs stabilisés dans du cobas® PCR Media issus de 84 sujets transplantés étaient valides pour les deux tests et évaluables pour l'analyse de concordance clinique (Tableau 32).

**Tableau 32** Analyse de concordance entre les résultats des niveaux d'ADN de BKV ( $\log_{10}$  UI/mL) obtenus avec le cobas® BKV et le TDL comparatif pour l'ensemble des échantillons (d'urine stabilisée)

| cobas® BKV<br>( $\log_{10}$ UI/mL) | TDL BKV<br>comparatif<br>Target Not<br>Detected | TDL BKV<br>comparatif<br>< LLoQ<br>(< 3,0) | TDL BKV<br>comparatif<br>3,0 à < 3,3 | TDL BKV<br>comparatif<br>3,3 à < 3,6 | TDL BKV<br>comparatif<br>3,6 à 3,9 | TDL BKV<br>comparatif<br>> 3,9 | Total |
|------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|-------|
| Target Not Detected                | 62                                              | 6                                          | 0                                    | 0                                    | 0                                  | 0                              | 68    |
| < LLoQ (< 3,0)                     | 4                                               | 22                                         | 0                                    | 0                                    | 0                                  | 1                              | 27    |
| 3,0 à < 3,3                        | 0                                               | 2                                          | 0                                    | 0                                    | 0                                  | 0                              | 2     |
| 3,3 à < 3,6                        | 0                                               | 0                                          | 6                                    | 3                                    | 0                                  | 0                              | 9     |
| 3,6 à 3,9                          | 0                                               | 0                                          | 2                                    | 11                                   | 10                                 | 0                              | 23    |
| > 3,9                              | 0                                               | 0                                          | 0                                    | 2                                    | 8                                  | 169                            | 179   |
| Total                              | 66                                              | 30                                         | 8                                    | 16                                   | 18                                 | 170                            | 308   |
| Corrélation de<br>colonne (%)      | (66/66) 100,0 %                                 | (30/30) 100,0 %                            | (6/8) 75,0 %                         | (14/16) 87,5 %                       | (18/18) 100,0 %                    | (169/170) 99,4 %               | -     |
| (Résultat IC à 95 %) <sup>a</sup>  | (94,5 %, 100,0 %)                               | (88,6 %, 100,0 %)                          | (40,9 %, 92,9 %)                     | (64,0 %, 96,5 %)                     | (82,4 %, 100,0 %)                  | (96,7 %, 99,9 %)               | -     |

Remarque : IC = intervalle de confiance ; LLoQ = limite de quantification inférieure du TDL BKV comparatif (1 000 UI/mL = 3,0  $\log_{10}$  UI/mL) ; TDL = test développé en laboratoire ; BKV = virus BK.

Écart-type du TDL BKV comparatif estimé à 0,15  $\log_{10}$  UI/mL (d'après l'étude de validation du TDL BKV comparatif).

Une concentration d'analyte de 3,3  $\log_{10}$  UI/mL représentait une LLoQ + 2 $\sigma$ , 3,6  $\log_{10}$  UI/mL représentait une LLoQ + 4 $\sigma$  et 3,9  $\log_{10}$  UI/mL représentait une LLoQ + 6 $\sigma$  avec une plage d'intervalle de 2 $\sigma$ .

Les échantillons appariés évaluables pour l'analyse de concordance clinique ont été inclus dans ce tableau.

<sup>a</sup> Indépendance supposée entre tous les échantillons.

Le séquençage de l'ADN effectué sur des échantillons représentatifs des sujets dont les résultats présentaient systématiquement un décalage de plus d'1  $\log_{10}$  UI/mL n'a révélé aucun mésappariement des séquences pour les cibles d'amorce ou de sonde pour le test cobas® BKV. Les résultats discordants ont été définis comme ceux situés à plus d'une case de la diagonale (ombrés). Pour les résultats « Target Not Detected » (TND) par corrélation de colonne du TDL, les cellules « Target Not Detected » et < LLoQ (< 3,0) pour le test cobas® BKV ont été combinées. La raison justifiant l'ajout des cellules adjacentes < LLoQ et TND pour la colonne TND réside dans le fait que la différence entre un résultat TND et < LLoQ n'est pas cliniquement significative et qu'ils se trouvent analytiquement à la limite inférieure de la plage de mesures, pouvant être impactée par une erreur aléatoire. Sur les 66 échantillons négatifs pour l'ADN du BKV prélevés pour l'estimation du PCN avec le test cobas® BKV, 61 ont produit des résultats valides. Ces 61 échantillons ont tous obtenu un résultat négatif au test cobas® BKV. Le PCN était donc de 100 % avec un IC exact à 95 % allant de 94,1 % à 100 %.

La concordance entre le test **cobas**® BKV et le TDL BKV comparatif a également été évaluée en utilisant différents seuils cliniques (Tableau 33).

**Tableau 33** Récapitulatif de la concordance du test **cobas**® BKV et du TDL BKV comparatif en utilisant différents seuils pour l'ensemble des échantillons (urine stabilisée)

| Seuil*                             | Pourcentage de corrélation<br>< seuil IC à 95 % (n/N) | Pourcentage de corrélation<br>≥ seuil IC à 95 % (n/N) |
|------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| Target Not Detected                | 93,9 % (62/66)<br>(85,4 %, 97,6 %)                    | 97,5 % (236/242)<br>(94,7 %, 98,9 %)                  |
| LLoQ (3,0 log <sub>10</sub> UI/mL) | 97,9 % (94/96)<br>(92,7 %, 99,4 %)                    | 99,5 % (211/212)<br>(97,4 %, 99,9 %)                  |
| 4,0 log <sub>10</sub> UI/mL        | 90,9 % (130/143)<br>(85,1 %, 94,6 %)                  | 99,4 % (164/165)<br>(96,6 %, 99,9 %)                  |
| 7,0 log <sub>10</sub> UI/mL        | 97,2 % (242/249)<br>(94,3 %, 98,6 %)                  | 94,9 % (56/59)<br>(86,1 %, 98,3 %)                    |

Remarque : Les échantillons présentant des résultats « Target Not Detected » ont été catégorisés comme « < à la valeur seuil en UI/mL ».

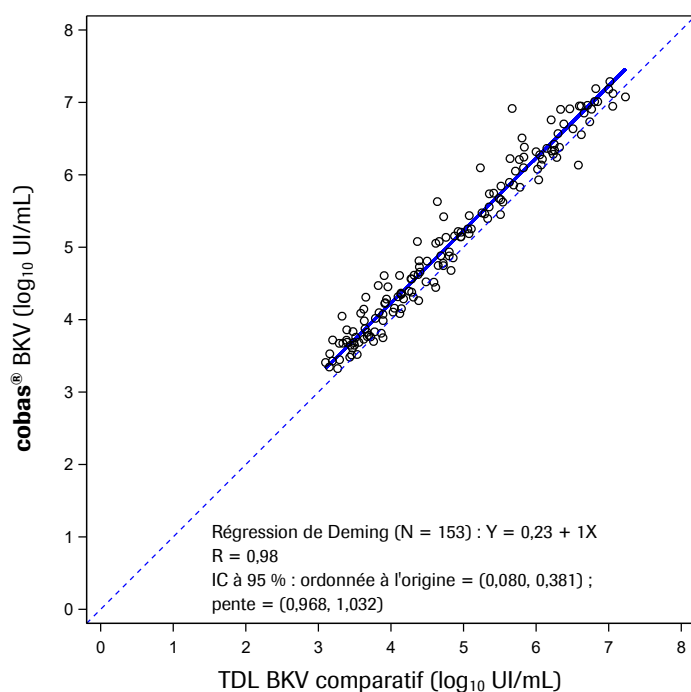
LLoQ = limite de quantification inférieure du TDL BKV comparatif (1000 UI/mL = 3,0 log<sub>10</sub> UI/mL).

L'intervalle de confiance (IC) à 95 % a été calculé à l'aide de la méthode de Score en supposant une indépendance entre tous les échantillons.

\* Seuils de 10 000 UI/mL = 4,0 log<sub>10</sub> UI/mL et 10 000 000 UI/mL = 7,0 log<sub>10</sub> UI/mL.

Sur l'ensemble des échantillons analysés avec le test **cobas**® BKV qui étaient positifs au BKV avec le test comparatif BKV, un total de 153 échantillons d'urine purs stabilisés dans du **cobas**® PCR Media issus de 55 sujets transplantés étaient évaluables pour l'analyse de corrélation sur les trois sites d'analyse (Figure 10).

**Figure 10** Corrélation entre le test **cobas**® BKV et le TDL BKV comparatif pour l'ensemble des échantillons : graphique de régression linéaire de Deming des niveaux d'ADN (log<sub>10</sub> UI/mL) (urine stabilisée)



Une analyse supplémentaire du graphique de biais concernant les différences des niveaux d'ADN a indiqué une différence systématique entre les deux tests, constante sur l'ensemble du domaine de linéarité de chevauchement. L'IC à 95 % de l'ordonnée à l'origine de la droite ajustée des graphiques de biais allait de 0,168 à 0,488, ce qui est compris dans l'intervalle de  $\pm 0,5 \log_{10}$  UI/mL. En outre, le biais moyen a été estimé à  $0,231 \log_{10}$  UI/mL et, d'après l'équation de la droite ajustée des graphiques de biais, la différence systématique entre les deux tests était de  $0,248 \log_{10}$  UI/mL et de  $0,188 \log_{10}$  UI/mL pour les échantillons contenant des niveaux d'ADN à  $4 \log_{10}$  UI/mL et  $7 \log_{10}$  UI/mL, respectivement.

## Informations supplémentaires

### Caractéristiques clés du test

|                                         |                                                                                    |                                                                                   |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Type d'échantillon                      | Plasma EDTA                                                                        | Urine stabilisée dans le <b>cobas®</b> PCR Media                                  |
| Quantité d'échantillon minimale requise | 350 µL*                                                                            | 550 µL*                                                                           |
| Volume de prise d'essai d'échantillon   | 200 µL                                                                             | 400 µL                                                                            |
| Sensibilité analytique                  | 21,5 UI/mL (intervalle de confiance bilatéral à 95 % :<br>16,3 UI/mL - 32,4 UI/mL) | 12,2 UI/mL (intervalle de confiance bilatéral à 95 % :<br>9,2 UI/mL - 18,3 UI/mL) |
| Domaine de linéarité                    | 21,5 UI/mL à $1E+08$ UI/mL                                                         | 200 UI/mL à $1E+08$ UI/mL                                                         |
| Spécificité                             | 100 %                                                                              | 100 %                                                                             |
| Sous-types détectés                     | Sous-types I (avec les sous-groupes Ia, Ib et Ic), II, III et IV de BKV            |                                                                                   |

\* Volume mort de 150 µL identifié pour les tubes secondaires **cobas® omni**. Les autres tubes utilisés pour le test peuvent contenir un volume mort différent et nécessiter un volume minimum plus ou moins élevé. Contactez votre représentant service Roche local pour obtenir plus d'informations.



## Symboles

Les symboles suivants sont utilisés dans toute la documentation accompagnant les produits de diagnostic par PCR de Roche.

**Tableau 34** Symboles utilisés dans l'étiquetage des produits de diagnostic par PCR de Roche

|                                   |                                                                                                                                                                 |                        |                                                                                                                   |                                 |                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Age/DOB</b>                    | Âge ou date de naissance                                                                                                                                        |                        | Dispositif non adapté aux diagnostic près du patient                                                              | <b>QS IU/PCR</b>                | UI SQ par réaction de PCR, utiliser les unités internationales (UI) SQ par réaction de PCR pour le calcul des résultats.                               |
|                                   | Logiciel auxiliaire                                                                                                                                             |                        | Dispositif non destiné à l'autodiagnostic                                                                         | <b>SN</b>                       | Numéro de série                                                                                                                                        |
| <b>Assigned Range [copies/mL]</b> | Intervalle assigné (copies/mL)                                                                                                                                  |                        | Distributeur<br><i>(Remarque : le pays/la région économique applicable peut être indiqué(e) sous le symbole.)</i> | <b>Site</b>                     | Site                                                                                                                                                   |
| <b>Assigned Range [IU/mL]</b>     | Intervalle assigné (UI/mL)                                                                                                                                      |                        | Ne pas réutiliser                                                                                                 | <b>Procedure Standard</b>       | Procédure standard                                                                                                                                     |
| <b>EC REP</b>                     | Mandataire dans la Communauté européenne                                                                                                                        |                        | Femme                                                                                                             | <b>STERILE EO</b>               | Sterilisé à l'aide d'oxyde d'éthylène                                                                                                                  |
|                                   | Fiche technique à code-barres                                                                                                                                   |                        | Pour évaluation des performances DIV uniquement                                                                   |                                 | Conserver dans un endroit sombre                                                                                                                       |
| <b>LOT</b>                        | Code de la série                                                                                                                                                | <b>GTIN</b>            | Code article international                                                                                        |                                 | Limites de température                                                                                                                                 |
|                                   | Risques biologiques                                                                                                                                             |                        | Importateur                                                                                                       |                                 | Fichier de définition de tests                                                                                                                         |
| <b>REF</b>                        | Référence du catalogue                                                                                                                                          | <b>IVD</b>             | Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>                                                                  |                                 | Orienté vers le haut                                                                                                                                   |
|                                   | Marquage CE de conformité ; ce dispositif est conforme aux exigences en vigueur concernant le marquage CE d'un dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> | <b>LLR</b>             | Limite inférieure de l'intervalle assigné                                                                         | <b>Procedure UltraSensitive</b> | Procédure ultrasensible                                                                                                                                |
| <b>Collect Date</b>               | Date de collecte                                                                                                                                                |                        | Homme                                                                                                             | <b>UDI</b>                      | Identifiant unique des dispositifs                                                                                                                     |
|                                   | Consulter les instructions d'utilisation                                                                                                                        |                        | Fabricant                                                                                                         | <b>ULR</b>                      | Limite supérieure de l'intervalle assigné                                                                                                              |
|                                   | Contenu suffisant pour <n> tests                                                                                                                                | <b>CONTROL -</b>       | Contrôle négatif                                                                                                  | <b>Urine Fill Line</b>          | Ligne de remplissage d'urine                                                                                                                           |
| <b>CONTENT</b>                    | Contenu du kit                                                                                                                                                  |                        | Non stérile                                                                                                       | <b>Rx Only</b>                  | Pour les États-Unis : Attention : la législation fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux professionnels de santé autorisés à exercer. |
| <b>CONTROL</b>                    | Contrôle                                                                                                                                                        |                        | Nom du patient                                                                                                    |                                 | Date limite d'utilisation                                                                                                                              |
|                                   | Date de fabrication                                                                                                                                             |                        | Numéro patient                                                                                                    |                                 |                                                                                                                                                        |
|                                   | Dispositif de diagnostic près du patient                                                                                                                        |                        | Retirer ici                                                                                                       |                                 |                                                                                                                                                        |
|                                   | Dispositif d'autodiagnostic                                                                                                                                     | <b>CONTROL +</b>       | Contrôle positif                                                                                                  |                                 |                                                                                                                                                        |
|                                   |                                                                                                                                                                 | <b>QS copies / PCR</b> | Copies SQ par réaction de PCR, utiliser les copies SQ par réaction de PCR pour le calcul des résultats.           |                                 |                                                                                                                                                        |

## Assistance technique

Pour bénéficier d'une assistance technique, merci de vous adresser à votre filiale locale :  
[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Fabricant et importateur

**Tableau 35** Fabricant et importateur



Roche Molecular Systems, Inc.  
1080 US Highway 202 South  
Branchburg, NJ 08876, USA  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Fabriqué aux États-Unis



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

## Marques commerciales et brevets

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

## Droit d'auteur

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Références

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.

## Révision du document

| Informations sur la révision du document |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Doc Rev. 4.0<br>12/2024                  | <p>Ajout d'informations relatives à la version du logiciel 2.0 pour les systèmes <b>cobas</b>® 6800/8800.</p> <p>Ajout du code NIBSC : 14/212 pour le standard international de l'OMS.</p> <p>Mise à jour de l'affichage des exemples de résultats sur les systèmes <b>cobas</b>® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4.</p> <p>Retrait des P/N des consommables, référence aux informations détaillées relatives aux consommables dans l'Assistance Utilisateur des systèmes <b>cobas</b>® 5800 et <b>cobas</b>® 6800/8800.</p> <p>Retrait du symbole « Rx Only » de la page de couverture.</p> <p>Mise à jour de la page des symboles harmonisés.</p> <p>Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.</p> |

Le résumé du rapport sur la sécurité et les performances peut être consulté en utilisant le lien suivant :  
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.