

## **cobas<sup>®</sup> BKV**

---

### **Количественный тест на основе амплификации нуклеиновых кислот в системах cobas<sup>®</sup> 5800/6800/8800**

Для диагностики *in vitro*

**cobas<sup>®</sup> BKV**

P/N: 09040960190

**Для использования в системе cobas<sup>®</sup> 5800**

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

P/N: 09040951190

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

P/N: 09051953190

**Для использования в системах cobas<sup>®</sup> 6800/8800**

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

P/N: 08688214190 или  
P/N: 09040951190

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

P/N: 07002238190 или  
P/N: 09051953190

# Содержание

|                                                                                                                                                                                 |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Назначение .....</b>                                                                                                                                                         | <b>5</b>  |
| <b>Описание теста .....</b>                                                                                                                                                     | <b>5</b>  |
| <b>Реагенты и материалы .....</b>                                                                                                                                               | <b>9</b>  |
| Реагенты и контроли теста <b>cobas® BKV</b> .....                                                                                                                               | 9         |
| Реагенты <b>cobas® omni</b> для пробоподготовки .....                                                                                                                           | 12        |
| Хранение реагентов и правила работы с ними .....                                                                                                                                | 13        |
| Требования к условиям использования реагентов для системы <b>cobas® 5800</b> или систем <b>cobas® 6800/8800</b> .....                                                           | 14        |
| Дополнительные необходимые материалы для систем <b>cobas® 5800/6800/8800</b> .....                                                                                              | 15        |
| Необходимое оборудование и программное обеспечение .....                                                                                                                        | 16        |
| <b>Меры предосторожности и правила работы .....</b>                                                                                                                             | <b>17</b> |
| Меры предосторожности .....                                                                                                                                                     | 17        |
| Обращение с реагентами .....                                                                                                                                                    | 18        |
| Надлежащая лабораторная практика .....                                                                                                                                          | 18        |
| <b>Сбор, транспортировка и хранение образцов .....</b>                                                                                                                          | <b>19</b> |
| Образцы плазмы с ЭДТА .....                                                                                                                                                     | 19        |
| Образцы мочи .....                                                                                                                                                              | 20        |
| <b>Инструкции по использованию .....</b>                                                                                                                                        | <b>21</b> |
| Рекомендации по процедуре .....                                                                                                                                                 | 21        |
| Постановка теста <b>cobas® BKV</b> в системах <b>cobas® 5800/6800/8800</b> .....                                                                                                | 21        |
| <b>Результаты .....</b>                                                                                                                                                         | <b>24</b> |
| Контроль качества и валидность результатов в системе <b>cobas® 5800</b> и системах <b>cobas® 6800/8800</b> с программным обеспечением версии 2.0 или более поздней версии ..... | 24        |
| Контроль качества и валидность результатов в программном обеспечении версии 1.4 систем <b>cobas® 6800/8800</b> .....                                                            | 25        |
| Флаги контролей в системах <b>cobas® 6800/8800</b> с программным обеспечением версии 1.4 .....                                                                                  | 25        |

|                                                                                                                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Интерпретация результатов для систем <b>cobas</b> ® 5800/6800/8800 .....                                                                                            | 26        |
| Интерпретация результатов в системе <b>cobas</b> ® 5800 и системах <b>cobas</b> ® 6800/8800<br>с программным обеспечением версии 2.0 или более поздней версии ..... | 26        |
| Интерпретация результатов в системах <b>cobas</b> ® 6800/8800 с программным обеспечением<br>версии 1.4.....                                                         | 27        |
| Ограничения процедуры.....                                                                                                                                          | 28        |
| <b>Доклинические испытания теста .....</b>                                                                                                                          | <b>29</b> |
| Эквивалентность систем .....                                                                                                                                        | 29        |
| Основные характеристики для образцов плазмы с ЭДТА .....                                                                                                            | 29        |
| Предел обнаружения (LoD): Международный стандарт ВОЗ .....                                                                                                          | 29        |
| Линейный диапазон .....                                                                                                                                             | 30        |
| Внутрилабораторная воспроизводимость.....                                                                                                                           | 31        |
| Верификация субтипов .....                                                                                                                                          | 32        |
| Специфичность .....                                                                                                                                                 | 32        |
| Аналитическая специфичность .....                                                                                                                                   | 33        |
| Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества .....                                                                                                         | 34        |
| Корреляция методов.....                                                                                                                                             | 34        |
| Системные ошибки .....                                                                                                                                              | 35        |
| Перекрестная контаминация .....                                                                                                                                     | 35        |
| Основные характеристики для образцов мочи .....                                                                                                                     | 36        |
| Предел обнаружения (LoD): Международный стандарт ВОЗ .....                                                                                                          | 36        |
| Линейный диапазон .....                                                                                                                                             | 37        |
| Внутрилабораторная воспроизводимость.....                                                                                                                           | 38        |
| Верификация субтипов .....                                                                                                                                          | 39        |
| Специфичность .....                                                                                                                                                 | 40        |
| Аналитическая специфичность .....                                                                                                                                   | 40        |
| Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества .....                                                                                                         | 41        |
| Корреляция методов.....                                                                                                                                             | 43        |
| Перекрестная контаминация .....                                                                                                                                     | 43        |

|                                                                                     |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Клинические испытания теста .....</b>                                            | <b>44</b> |
| Воспроизводимость теста <b>cobas® BKV</b> для образцов плазмы с ЭДТА.....           | 44        |
| Испытание теста <b>cobas® BKV</b> для образцов плазмы с ЭДТА .....                  | 45        |
| Воспроизводимость теста <b>cobas® BKV</b> для образцов стабилизированной мочи ..... | 48        |
| Испытание теста <b>cobas® BKV</b> для образцов стабилизированной мочи .....         | 50        |
| <b>Дополнительная информация .....</b>                                              | <b>53</b> |
| Основные характеристики теста .....                                                 | 53        |
| Условные обозначения .....                                                          | 54        |
| Техническая поддержка.....                                                          | 55        |
| Производитель и импортёр .....                                                      | 55        |
| Товарные знаки и патенты .....                                                      | 55        |
| Авторское право .....                                                               | 55        |
| Литература .....                                                                    | 56        |
| Редакция документа .....                                                            | 57        |

## Назначение

Тест **cobas® BКV** предназначен для количественного определения ДНК вируса ВК (ВКV) в образцах плазмы человека с ЭДТА и мочи, стабилизированной в **cobas® PCR Media**, методом амплификации нуклеиновых кислот *in vitro*.

При использовании образцов плазмы с ЭДТА тест **cobas® BКV** предназначен для применения в качестве вспомогательного средства для диагностики и ведения ВКV-инфекции у пациентов, перенесших трансплантацию. У пациентов, которые проходят мониторинг ВКV-инфекции, для выявления потребности в потенциальных изменениях схемы лечения и определения ответа на противовирусную терапию могут применяться серийные измерения концентрации ДНК в образцах плазмы с ЭДТА.

При использовании образцов мочи, стабилизированной в **cobas® PCR Media**, тест **cobas® BКV** предназначен для применения в качестве вспомогательного средства для диагностики и ведения ВКV-инфекции у пациентов, перенесших трансплантацию.

Результаты теста **cobas® BКV** необходимо интерпретировать в контексте всех клинических и лабораторных данных.

Тест **cobas® BКV** не предназначен для применения в качестве скринингового теста для крови или ее продуктов.

## Описание теста

### Введение

У реципиентов трансплантатов повышен риск многих вирусных и бактериальных инфекций, которые с большей вероятностью могут вызвать серьезные нежелательные последствия для здоровья в популяции пациентов, перенесших трансплантацию, по сравнению с общей здоровой популяцией. Этот повышенный риск отчасти объясняется снижением функции иммунной системы вследствие применения иммуносупрессивных препаратов, которые пациенты после трансплантации получают с целью уменьшения вероятности отторжения трансплантата.<sup>1, 2</sup>

Вирус ВК (ВКV) представляет собой небольшой (~ 5 кб) безоболочечный вирус, содержащий дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК), который принадлежит к семейству полиомавирусов. Существуют четыре основных субтипа ВКV, из которых наиболее часто выявляется подтип I (80 %), и за ним следует подтип IV (15 %).<sup>3</sup> Серопревалентность ВКV составляет > 80 % в общей популяции здоровых взрослых.<sup>4</sup> У иммунокомпетентных лиц ВКV не связан со значительной патологией. Тем не менее ВКV-инфекция может вызвать заболевание с тяжелыми клиническими проявлениями у людей с ослабленным иммунитетом, включая реципиентов трансплантатов.<sup>5</sup>

ВКV-инфекции чаще всего поражают почки и мочевыводящие пути. После первичной инфекции вирус остается латентным в эпителии почечных канальцев и мочеточника и может активизироваться повторно у людей с ослабленным иммунитетом. Пациенты после трансплантации почек, по сравнению с реципиентами других типов трансплантатов, подвергаются более высокому риску осложнений, связанных с ВКV, включая нефропатию, вызванную полиомавирусом (PVN), и стеноз мочеточника. Доля реципиентов почечных трансплантатов, у которых встречается PVN, достигает 10 %. Примерно у 50 % пациентов с PVN возникает отторжение трансплантата. Кроме того, приблизительно у 3 % реципиентов почечных трансплантатов развивается стеноз

мочеточника, связанный с BKV.<sup>5</sup> Трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) также чаще сопровождаются осложнениями, связанными с BKV, в большинстве случаев в форме геморрагического цистита (ГЦ). ГЦ развивается у 5–15 % пациентов после ТГСК<sup>1</sup>.

В руководствах рекомендуется проводить регулярный мониторинг BKV-инфекции у пациентов с трансплантацией почки в течение 5 лет после операции<sup>6</sup>. Такой подход позволяет выявить 80–90 % пациентов с риском развития PVN. Тестирование плазмы на наличие BKV-виремии рекомендуется проводить в рамках стратегии по выявлению пациентов с повышенным риском развития PVN либо в качестве подтверждающего теста для пациентов, у которых обнаружена BKV-вирурия, либо в качестве основного метода тестирования для стандартного скрининга.<sup>6</sup> В настоящее время отсутствуют рекомендации касательно стандартного мониторинга BKV-инфекции у пациентов, которые проходят ТГСК, и тестирование рекомендуется в первую очередь для оценки пациентов с гематурией и клиническими симптомами цистита. Однако уровень ДНК BKV, превышающий 10 000 копий/мл, связан с более высоким риском ГЦ у пациентов после трансплантации<sup>7</sup>.

Для пациентов после трансплантации почек, у которых наблюдается персистирующее повышение уровней ДНК BKV в плазме, обычно определяемое как значение выше 10 000 копий/мл, рекомендуется выполнять тестирование плазмы на наличие BKV каждые 1–2 недели, пока уровень ДНК не вернется к неопределяемому при двух последовательных измерениях.

Многие лабораторные количественные тесты на BKV не стандартизированы, что приводит к высокой вариабельности результатов между лабораториями и тестами.<sup>6,7</sup> Кроме того, компоненты мочи могут вызывать агрегацию BKV, что также может влиять на вариабельность результатов количественного измерения.<sup>8,9</sup> Формальная оценка воспроизводимости и валидности уровней ДНК BKV имеет решающее значение для обеспечения стабильных результатов (независимо от того, в какой лаборатории проводился анализ) в целях клинического ведения пациентов с заболеваниями, связанными с BKV.

Хотя точный порог обнаружения вируса, значимый с медицинской точки зрения, все еще является предметом дискуссий из-за вариабельности результатов между тестами, концепция критического порога представляется обоснованной и была обозначена в исследованиях естественного течения заболевания, показывающих, что более высокие уровни ДНК BKV коррелируют с повышенным риском развития PVN и ГЦ.<sup>6,7</sup>

## Обоснование тестирования нуклеиновых кислот (NAT)

Серологическое тестирование для обнаружения полиомавируса обычно не используется в клинических условиях; оно имеет значение только для определения того, был ли пациент ранее инфицирован BKV и подвержен ли риску реактивации вируса. Для получения результатов культуральных методов определения вируса требуется много времени, и поскольку они полуколичественные, то имеют ограниченное применение у пациентов с ослабленным иммунитетом, у которых часто обнаруживаются низкие уровни вируса. Прямое обнаружение ДНК BKV методом ПЦР в реальном времени обладает чрезвычайно широким динамическим диапазоном, воспроизводимостью, оптимальной чувствительностью и специфичностью для использования у пациентов, которые проходят трансплантацию.

## Принципы теста

Тест **cobas® BKV** — это количественный тест, проводимый в системах **cobas® 5800/6800/8800**. Тест **cobas® BKV** позволяет осуществлять детекцию и количественное определение ДНК BKV в плазме с ЭДТА и моче, стабилизированной в среде **cobas® PCR Media**, от инфицированных пациентов. Количественное определение уровня ДНК BKV проводится относительно количественного стандарта ДНК (DNA-QS), не являющейся ДНК BKV, который вносится в каждый образец во время пробоподготовки. DNA-QS также используется как внутренний контроль для мониторинга всего процесса пробоподготовки и амплификации в ПЦР. Также в тесте применяются три внешних контроля: положительный высокотитражный, положительный низкотитражный и отрицательный. Внешние высоко положительный и низко положительный контроли получены путем разведения исходных материалов с титром, прослеживаемым до 1-го Международного стандарта ВОЗ для BKV (код NIBSC: 14/212). Каждый лот набора для амплификации/детекции калибруется относительно 1-го Международного стандарта ВОЗ для BKV (код NIBSC: 14/212).

## Процедуры, лежащие в основе теста

Тест **cobas® BKV** основан на полностью автоматизированной пробоподготовке (выделении и очистке нуклеиновых кислот) с последующей амплификацией в ПЦР и детекцией. Система **cobas® 5800** представляет собой один интегрированный прибор. Системы **cobas® 6800/8800** состоят из модуля подачи образцов, модуля переноса, модуля обработки и аналитического модуля. Автоматизированное управление данными осуществляется в программном обеспечении системы **cobas® 5800** или систем **cobas® 6800/8800**, которое присваивает всем тестам следующие результаты: мишень не обнаружена, ДНК BKV обнаружена на уровне  $< \text{LLoQ}$  (нижний предел количественного определения), ДНК BKV обнаружена на уровне  $> \text{ULoQ}$  (верхний предел количественного определения) или указывает значение концентрации, которое находится в линейном диапазоне  $\text{LLoQ} < x < \text{ULoQ}$ . Результаты можно просматривать непосредственно на экране системы, экспортировать и распечатывать в виде отчета.

Нуклеиновые кислоты образца и вносимых в него молекул лямбды DNA-QS выделяются одновременно. Вирусные нуклеиновые кислоты освобождаются в результате внесения в образец протеазы и лизирующего реагента. Освободившаяся нуклеиновая кислота связывается с кремниевой поверхностью внесенных в образец магнитных стеклочастиц. Несвязавшиеся вещества и примеси, например денатурировавшие белки, клеточный дебрис, потенциальные ингибиторы ПЦР, удаляются на последующих этапах с помощью промывочного реагента, и очищенная нуклеиновая кислота элюируется со стеклочастиц буфером для элюции при повышенной температуре.

Избирательная амплификация нуклеиновой кислоты-мишени из образца достигается путем использования специфичной к вирусу двойной мишени из высококонсервативных участков генома BKV, расположенных в участках малого t-антигена BKV и VP2 BKV. Избирательная амплификация DNA-QS достигается путем использования аллель-специфичных прямого и обратного праймеров, подобранных с учетом отсутствия гомологии с геномом BKV. Термостабильный фермент ДНК-полимераза используется для амплификации. Последовательности-мишени и последовательности DNA-QS амплифицируются одновременно в ПЦР с единым профилем с заданными температурными этапами и числом циклов. В состав мастермикса входит трифосфат дезоксиуридина (dUTP) вместо трифосфата дезокситимидина (dTTP), который встраивается во вновь синтезируемые цепи ДНК (ампликон).<sup>10-12</sup> Любые контаминирующие ампликоны из предыдущих постановок ПЦР разрушаются ферментом AmpErase, входящим в состав ПЦР-смеси, во время нагревания на первом этапе

термоциклирования. Однако вновь синтезируемые ампликоны не элиминируются, поскольку фермент AmpErase инактивируется при нагревании выше 55 °C.

Мастермикс теста **cobas® BKV** содержит два зонда для детекции последовательностей-мишеней BKV и один зонд для детекции DNA-QS. Каждый зонд мечен мишень-специфичным флуоресцентным репортерным красителем, что позволяет проводить одновременную детекцию мишени BKV и DNA-QS по двум разным целевым каналам.<sup>13, 14</sup> Флуоресцентный сигнал интактного зонда подавляется гасителем. Во время этапа амплификации ПЦР зонды гибридизуются со специфичными матрицами одноцепочечной ДНК и разрушаются вследствие 5'-3'-нуклеазной активности ДНК-полимеразы. Это приводит к разделению репортерного и гасящего красителя и генерированию флуоресцентного сигнала. На каждом цикле ПЦР увеличивается количество разрушенных зондов и происходит кумулятивный рост сигнала от репортерного красителя. Детекция в режиме реального времени и дифференциация продуктов ПЦР происходит благодаря измерению флуоресцентного сигнала от репортерных красителей вирусной мишени и DNA-QS.

# Реагенты и материалы

## Реагенты и контроли теста cobas® BKV

Материалы, предоставляемые для теста cobas® BKV, перечислены в Табл. 1. Необходимые, но не предоставляемые материалы перечислены в Табл. 2 – Табл. 4 и в Табл. 8 – Табл. 10.

Все неоткрытые реагенты и контроли должны храниться как рекомендовано в Табл. 1 — Табл. 4.

**Табл. 1** cobas® BKV

### cobas® BKV

Хранить при температуре 2–8 °C

Кассета на 192 теста (P/N 09040960190)

| Компоненты набора                            | Состав реагента                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Количество в наборе 192 тестов |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| <b>Раствор протеазы (PASE)</b>               | Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, хлорид кальция, ацетат кальция, 8 % протеиназа, глицерин<br><br>EUN210: Паспорт безопасности предоставляется по запросу.<br>EUN208: Содержит субтилизин, полученный из бактерий <i>Bacillus subtilis</i> .<br>Может вызывать аллергическую реакцию.                                                                                                                                                                                                                                              | 22,3 мл                        |
| <b>Количественный стандарт ДНК (DNA QS)</b>  | Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, < 0,001 % не относящийся к BKV конструкт ДНК, содержащий не относящиеся к BKV сайты посадки праймеров и уникального зонда (неинфекционная ДНК), < 0,002 % поли гА РНК (синтетическая), < 0,1 % азид натрия                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 21,2 мл                        |
| <b>Буфер для элюции (EB)</b>                 | Трис буфер, 0,2 % метил-4-гидроксibenзоат                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 21,2 мл                        |
| <b>Мастермикс реагент 1 (MMX-R1)</b>         | Ацетат марганца, гидроксид калия, < 0,1 % азид натрия                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 7,5 мл                         |
| <b>BKV мастермикс реагент 2 (BKV MMX-R2)</b> | Трициновый буфер, ацетат калия, глицерин, < 18 % диметилсульфоксид, глицерин, < 0,1 % Tween 20, ЭДТА, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % прямые и обратные праймеры для BKV, < 0,01 % прямые и обратные праймеры для количественного стандарта, < 0,01 % меченные флуоресцентным красителем олигонуклеотидные зонды для BKV и количественного стандарта BKV, < 0,01 % олигонуклеотидный аптамер, < 0,01 % Z05D ДНК-полимераза, < 0,10 % фермент AmpErase (урацил-N-гликозилаза) (бактериальный), < 0,1 % азид натрия | 9,7 мл                         |

**Табл. 2** Набор контролей cobas® EBV/BKV Control Kit**cobas® EBV/BKV Control Kit**

Хранить при 2–8 °C

Для использования в системе cobas® 5800 и системах cobas® 6800/8800 с программным обеспечением версии 2.0 или более поздней версии (P/N 09040951190)

Для использования в системах cobas® 6800/8800 с программным обеспечением версии 1.4 (P/N 08688214190 или P/N 09040951190)

| Компоненты набора                                            | Состав реагента                                                                                                                                                                                            | Количество в наборе  | Маркировка безопасности и предупреждения *                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Низко положительный контроль EBV/BKV (EBV/BKV L(+ )C)</b> | < 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК ВКВ в оболочечном белке бактериофага Лямбда, нормальная плазма человека, негативная по ДНК ВКВ при тестировании методом ПЦР<br>< 0,1 % консервант ProClin® 300 ** | 4 мл<br>(8 × 0,5 мл) |   <p><b>ВНИМАНИЕ</b></p> <p>H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию.</p> <p>H412: Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями.</p> <p>P261: Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/аэрозолей.</p> <p>P273: Избегать попадания в окружающую среду.</p> <p>P280: Использовать защитные перчатки.</p> <p>P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью.</p> <p>P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием.</p> <p>P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре.</p> <p>55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).</p> |

|                                                                               |                                                                                                                                                                                                                           |                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Высоко<br/>положительный<br/>контроль<br/>EBV/BKV<br/>(EBV/BKV H(+))C)</b> | <p>&lt; 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК BV в оболочечном белке бактериофага Лямбда, нормальная плазма человека, негативная по ДНК BV при тестировании методом ПЦР</p> <p>&lt; 0,1 % консервант ProClin® 300 **</p> | <p>4 мл<br/>(8 × 0,5 мл)</p> | <div style="display: flex; align-items: center;">   </div> <p><b>ВНИМАНИЕ</b></p> <p>H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию.</p> <p>H412: Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями.</p> <p>P261: Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/аэрозолей.</p> <p>P273: Избегать попадания в окружающую среду.</p> <p>P280: Использовать защитные перчатки.</p> <p>P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью.</p> <p>P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием.</p> <p>P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре.</p> <p>55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).</p> |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

\* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

\*\* Опасное для здоровья вещество или смесь.

**Табл. 3** Набор буферных отрицательных контролей **cobas®** Buffer Negative Control Kit

**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Хранить при 2–8 °C

Для использования в системе **cobas®** 5800 и системах **cobas®** 6800/8800 с программным обеспечением версии 2.0 или более поздней версии (P/N 09051953190)

Для использования в системах **cobas®** 6800/8800 с программным обеспечением версии 1.4 (P/N 07002238190 или P/N 09051953190)

| Компоненты набора                                             | Состав реагента                                                                      | Количество в наборе          |
|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| <b>Буферный отрицательный контроль cobas®<br/>(BUF (-) C)</b> | <p>Трис буфер, &lt; 0,1 % азид натрия, ЭДТА, 0,002 % поли ГА РНК (синтетическая)</p> | <p>16 мл<br/>(16 × 1 мл)</p> |

## Реагенты cobas® omni для пробоподготовки

Табл. 4 Реагенты cobas® omni для подготовки образцов

| Реагенты                                                                                                    | Состав реагента                                                                                                                                                                              | Количество в наборе | Маркировка безопасности и предупреждения *                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Реагент cobas® omni MGP Reagent (MGP)</b><br>Хранить при 2–8 °C (P/N 06997546190)                        | Магнитные стеклочастицы, трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия                                                                                                      | 480 тестов          | Неприменимо                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>Дилуэнт для образцов cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b><br>Хранить при 2–8 °C (P/N 06997511190) | Трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия                                                                                                                               | 4 × 875 мл          | Неприменимо                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>Лизирующий реагент cobas® omni Lysis Reagent (LYS)</b><br>Хранить при 2–8 °C (P/N 06997538190)           | 43 % (м/м) гуанидин тиоцианат **,<br>5 % (м/о) полидоканол **,<br>2 % (м/о) дитиотреитол **,<br>дигидрат цитрата натрия<br><br>EUN032: При контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ. | 4 × 875 мл          | <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">    </div> <p><b>ОПАСНО</b></p> <p>H302 + H332: Вредно при проглатывании или вдыхании.</p> <p>H314: вызывает серьезные ожоги и повреждения глаз.</p> <p>H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями.</p> <p>P273: Избегать попадания в окружающую среду.</p> <p>P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства для защиты глаз/лица.</p> <p>P303 + P361 + P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой.</p> <p>P304 + P340 + P310: ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту.</p> <p>P391: Ликвидировать просыпания/проливы/утечки.</p> <p>593-84-0 Гуанидин тиоцианат<br/>           9002-92-0 Полидоканол<br/>           3483-12-3 (R*,R*)-1,4-димеркаптобутан-2,3-диол</p> |

|                                                                                                                             |                                                                |       |             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------|-------------|
| <b>Промывочный реагент</b><br><b>cobas® omni</b><br><b>Wash Reagent (WASH)</b><br>Хранить при 15–30 °C<br>(P/N 06997503190) | Дигидрат цитрата натрия,<br>0,1 % метил-4-гидрокси-<br>бензоат | 4,2 л | Неприменимо |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------|-------------|

\* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

\*\* Опасное для здоровья вещество или смесь.

## Хранение реагентов и правила работы с ними

Условия хранения реагентов и работы с ними приведены в Табл. 5, Табл.6 и Табл. 7.

Когда реагенты не загружены в систему **cobas® 5800** или системы **cobas® 6800/8800**, они должны храниться при температурах, указанных в Табл. 5.

**Табл. 5** Хранение реагентов (когда реагенты не загружены в систему)

| Реагент                                   | Температура хранения |
|-------------------------------------------|----------------------|
| <b>cobas® BKV</b>                         | 2–8 °C               |
| <b>cobas® EBV/BKV Control Kit</b>         | 2–8 °C               |
| <b>cobas® Buffer Negative Control Kit</b> | 2–8 °C               |
| <b>cobas® omni Lysis Reagent</b>          | 2–8 °C               |
| <b>cobas® omni MGP Reagent</b>            | 2–8 °C               |
| <b>cobas® omni Specimen Diluent</b>       | 2–8 °C               |
| <b>cobas® omni Wash Reagent</b>           | 15–30 °C             |

## Требования к условиям использования реагентов для системы cobas® 5800 или систем cobas® 6800/8800

Когда реагенты загружены в систему cobas® 5800 или системы cobas® 6800/8800, они хранятся при необходимых температурах, а их сроки годности отслеживаются и запрашиваются системой. Система допускает использование реагентов, только если они соответствуют всем условиям обращения с реагентами, приведенным в Табл. 6, Табл. 7 и Табл. 8. Система автоматически блокирует использование реагентов с истекшим сроком годности.

Информация об остаточной стабильности открытого набора и количестве случаев использования набора для тест-специфичных реагентов доступна через пользовательский интерфейс системы.

**Табл. 6** Требования к срокам хранения реагентов, отслеживаемым и запрашиваемым системой cobas® 5800

| Реагент                            | Стабильность открытого набора       | Количество случаев использования набора | Стабильность на борту  |
|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------|
| cobas® BKV                         | 90 дней после первого использования | 40                                      | 36 дней после загрузки |
| cobas® EBV/BKV Control Kit         | флакон для однократного применения  | 8                                       | 36 дней после загрузки |
| cobas® Buffer Negative Control Kit | флакон для однократного применения  | 16                                      | 36 дней после загрузки |

**Табл. 7** Требования к срокам хранения реагентов, отслеживаемым и запрашиваемым системами cobas® 6800/8800

| Реагент                            | Стабильность открытого набора       | Количество случаев использования набора | Стабильность после загрузки (вне встроенного холодильника) |
|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| cobas® BKV                         | 90 дней после первого использования | 40                                      | 40 часов после загрузки                                    |
| cobas® EBV/BKV Control Kit         | флакон для однократного применения  | 8                                       | 8 часов после загрузки                                     |
| cobas® Buffer Negative Control Kit | флакон для однократного применения  | 16                                      | 10 часов после загрузки                                    |

Табл. 8 содержит информацию о стабильности открытого набора реагентов cobas® omni. Перед каждой постановкой система проверяет стабильность открытого набора и убеждается в достаточности объема заполнения. Поэтому для этих реагентов не указывается количество случаев использования или стабильность после загрузки.

**Табл. 8** Требования к срокам хранения реагентов cobas® omni, отслеживаемым и запрашиваемым системами cobas® 5800/6800/8800

| Реагент                      | Стабильность открытого набора       |
|------------------------------|-------------------------------------|
| cobas® omni Lysis Reagent    | 30 дней после загрузки              |
| cobas® omni MGP Reagent      | 30 дней после первого использования |
| cobas® omni Specimen Diluent | 30 дней после загрузки              |
| cobas® omni Wash Reagent     | 30 дней после загрузки              |

## Дополнительные необходимые материалы для систем cobas® 5800/6800/8800

**Табл. 9** Материалы для использования в системах **cobas® 5800/6800/8800**

| Материал                            | 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 |

**Табл. 10** Расходные материалы для использования в системе **cobas® 5800 \***

| Материал                                                            |
|---------------------------------------------------------------------|
| <b>cobas® omni</b> Processing Plate 24                              |
| <b>cobas® omni</b> Liquid Waste Plate 24                            |
| <b>cobas® omni</b> Amplification Plate 24                           |
| Наконечники CORE TIPS с фильтром, 1 мл                              |
| Наконечники CORE TIPS с фильтром, 300 мкл                           |
| <b>cobas® omni</b> Liquid Waste Container                           |
| Мешок для твердых отходов или мешок с вкладышем для твердых отходов |
| 16-позиционный S-держатель пробирок, полный                         |
| Держатель 5-позиционных штативов                                    |

\* Каталожные номера см. в Поддержке пользователя системы **cobas® 5800**.

**Табл. 11** Расходные материалы для использования в системах **cobas® 6800/8800 \***

| Материал                                                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>cobas® omni</b> Processing Plate                                                                                       |
| <b>cobas® omni</b> Amplification Plate                                                                                    |
| <b>cobas® omni</b> Pipette Tips                                                                                           |
| <b>cobas® omni</b> Liquid Waste Container                                                                                 |
| Мешок для твердых отходов и контейнер для твердых отходов или мешок с вкладышем для твердых отходов и выдвижной контейнер |
| MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 2001-2050 — светло-зеленый 16 мм штатив MPA **, ***                                            |

\* Каталожные номера см. в Поддержке пользователя систем **cobas® 6800/8800**.

\*\* Обратитесь в ваше региональное представительство Roche за подробным списком доступных для заказа штативов для образцов, штативов для засоренных наконечников и лотков для штативов, подходящих приборам.

\*\*\* Штатив MPA 16 мм является предпочтительным штативом для использования с образцами, собранными в пробирки **cobas® PCR Media**.

**Табл. 12** Наборы для сбора образцов мочи, используемые с **cobas® BKV**

| Набор для сбора образцов                                                | 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 |
| Штатив для одноразовых пробирок <b>cobas®</b> PCR Media (опционально) * | 07958064190 |

\* Обратитесь в ваше региональное представительство Roche за подробной информацией.

Примечание. Набор **cobas®** PCR Urine Sample Kit используется для сбора и транспортировки образцов мочи. Каждый набор **cobas®** PCR Urine Sample Kit содержит 100 пакетов **cobas®** PCR Urine Sample Packets. Каждый пакет содержит 1 одноразовую пипетку и 1 пробирку **cobas®** PCR Media с 4,3 мл **cobas®** PCR Media. Реагент **cobas®** PCR Media используется для стабилизации нуклеиновых кислот во время транспортировки и хранения образцов мочи.

Для образцов мочи, которые непосредственно отправляются в лабораторию без использования набора **cobas®** PCR Urine Sample Kit для сбора, в качестве альтернативы можно использовать набор **cobas®** PCR Media Kit, содержащий 100 пробирок **cobas®** PCR Media (без одноразовых пипеток), при том, что образцы мочи должны быть перенесены в течение 24 часов с момента сбора.

## Необходимое оборудование и программное обеспечение

На системах **cobas®** 5800/6800/8800 должны быть установлены программное обеспечение **cobas®** 5800, программное обеспечение для систем **cobas®** 6800/8800 и аналитический пакет **cobas®** BKV (ASAP).

Вместе с системой **cobas®** 5800 и системами **cobas®** 6800/8800 предоставляются программное обеспечение версии 2.0 или более поздней версии, программное обеспечение Менеджера данных x800 и ПК (или сервер).

Для систем **cobas®** 6800/8800 программное обеспечение версии 1.4 и сервер Instrument Gateway (IG) предоставляются вместе с системой.

**Табл. 13** Приборы

| Оборудование                                              | P/N                       |
|-----------------------------------------------------------|---------------------------|
| Система <b>cobas®</b> 5800                                | 08707464001               |
| Система <b>cobas®</b> 6800                                | 05524245001 и 09575154001 |
| Система <b>cobas®</b> 8800                                | 05412722001 и 09575146001 |
| Модуль подачи образцов для систем <b>cobas®</b> 6800/8800 | 06301037001 и 09936882001 |

См. дополнительную информацию в Поддержке пользователя системы **cobas®** 5800 или систем **cobas®** 6800/8800.

Примечание. Обратитесь в ваше региональное представительство Roche за подробным списком доступных для заказа первичных и вторичных пробирок для образцов, штативов для образцов, штативов для засоренных наконечников и лотков для штативов, подходящих приборам.

Допускается применение с тестом **cobas®** BKV первичных пробирок, используемых для образцов мочи, собранных в среду для ПЦР **cobas®** PCR Media.

# Меры предосторожности и правила работы

## Меры предосторожности

Как и при выполнении любых тестов, соблюдение правил надлежащей лабораторной практики является условием качественного выполнения данного теста. Вследствие высокой аналитической чувствительности теста необходимо тщательно оберегать от контаминации реагенты и амплификационные смеси.

- Только для диагностики *in vitro*.
- Тест **cobas® BKV** не валидирован для использования в качестве скринингового теста на наличие BKV в крови и ее продуктах.
- Все образцы нужно рассматривать как потенциально инфекционные и соблюдать при работе с ними правила биологической безопасности, приведенные в документах Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories и CLSI Document M29-A4.<sup>15, 16</sup> Только персонал, обученный работе с инфекционными материалами, а также работе с тестом **cobas® BKV** и системами **cobas® 5800/6800/8800**, может выполнять данную процедуру.
- Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные, работать с ними нужно с соблюдением стандартных мер предосторожности. При разливе материалов немедленно проведите дезинфекцию свежеприготовленным 0,5%-м раствором гипохлорита натрия или калия в дистиллированной или деионизованной воде или следуйте стандартным инструкциям, принятым в вашей лаборатории.
- Набор контролей **cobas® EBV/BKV Control Kit** содержит плазму, полученную из крови человека. Исходный материал тестировался методами ПЦР, при этом обнаруживались приемлемые признаки низких уровней ДНК BKV. Ни один из известных методов не может обеспечить полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в продуктах крови человека.
- **Не замораживайте образцы цельной крови и мочи в первичных пробирках.**
- Для оптимального выполнения теста используйте только входящие в состав системы или рекомендованные для нее производителем расходные материалы.
- Паспорта безопасности материалов (ПБ) доступны по запросу в вашем региональном представительстве компании Roche.
- Внимательно следуйте рекомендациям и инструкциям для корректного проведения теста. Любое отклонение от инструкции может повлиять на результаты теста.
- Ложноположительные результаты могут быть получены при отсутствии адекватного контроля перекрестных контаминаций образцов на этапах пробоподготовки.
- Реагент **cobas® PCR Media** (из первичных пробирок для сбора образцов) содержит гуанидин гидрохлорид. **Не допускайте прямого контакта гуанидина гидрохлорида с гипохлоритом натрия или калия и другими высокореактивными реагентами, такими как кислоты или щелочи. Эти смеси могут выделять токсичный газ.**
- При разливе жидкости, содержащей гуанидин гидрохлорид, обработайте поверхность лабораторным моющим средством и водой. Если разлитая жидкость содержит потенциально инфекционный материал, **СНАЧАЛА** обработайте поверхность лабораторным моющим средством и водой, затем 0,5%-м раствором гипохлорита натрия или калия.
- О любых серьезных инцидентах, имевших место при работе с данным тестом, сообщайте в местный уполномоченный орган и производителю.

## Обращение с реагентами

- Работайте со всеми реагентами, контролями и образцами в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики для предотвращения перекрестной контаминации образцов и контролей.
- Перед началом работы осмотрите все кассеты реагентов, дилуэнт, лизирующий реагент и промывочный реагент и убедитесь в отсутствии протекания. При наличии протекания не используйте данный материал для постановки теста.
- Лизирующий реагент **cobas® omni** Lysis Reagent содержит гуанидин тиоцианат — потенциально опасное вещество. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог.
- Реагенты наборов теста **cobas® BKV**, реагент **cobas® omni** MGP Reagent и дилуэнт для образцов **cobas® omni** Specimen Diluent содержат в качестве консерванта азид натрия. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог. При проливе этих реагентов промойте их водой и затем вытрите.
- Не допускайте контакта лизирующего реагента **cobas® omni** Lysis Reagent, содержащего гуанидин тиоцианат, с раствором гипохлорита натрия или калия. Данная смесь может выделять высокотоксичный газ.
- Утилизируйте все материалы, контактировавшие с образцами и реагентами, в соответствии с государственными, федеральными и региональными правилами.

## Надлежащая лабораторная практика

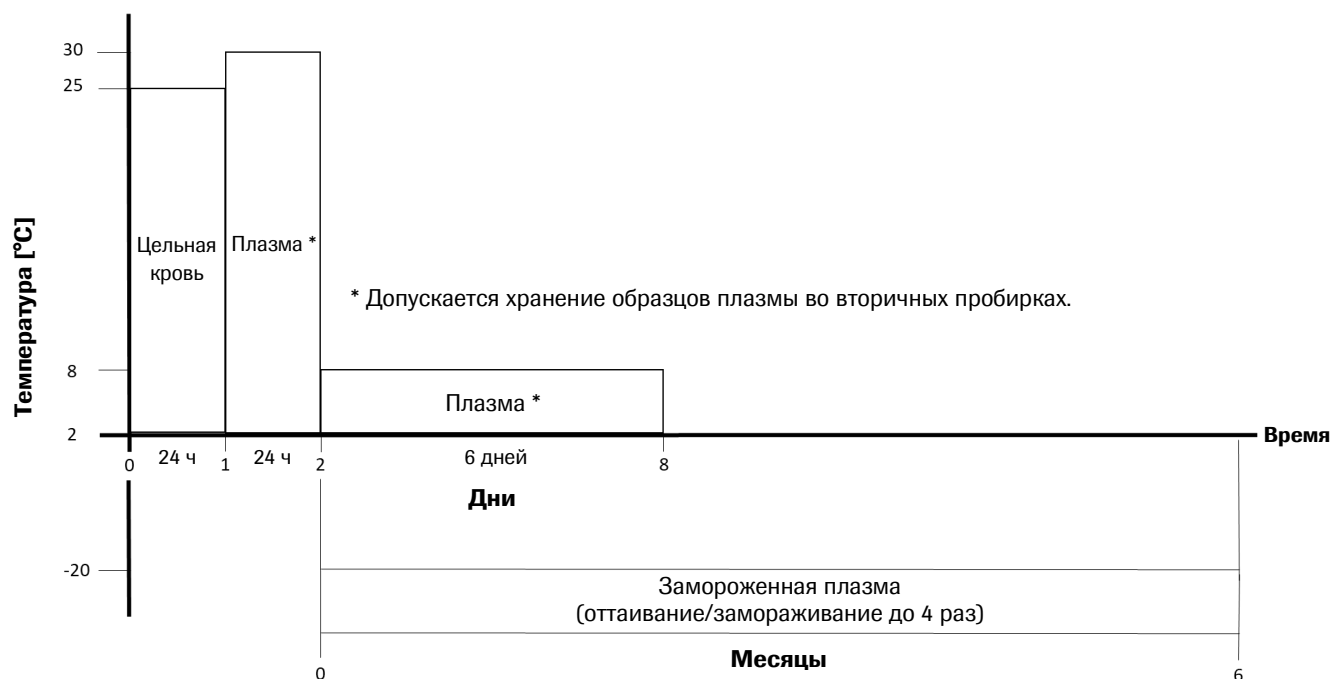
- Не пипетируйте ртом.
- Не ешьте, не пейте и не курите в рабочих лабораторных помещениях.
- Работайте со всеми реагентами и образцами в лабораторных перчатках, лабораторном халате и используйте средства для защиты глаз. Для предотвращения контаминации меняйте перчатки после работы с образцами и наборами реагентов **cobas® BKV**, низко положительным контролем EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C), высоко положительным контролем EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C), наборами буферных отрицательных контролей **cobas®** Buffer Negative Control Kit и реагентами **cobas® omni**. Не допускайте контаминации перчаток при работе с образцами и контролями.
- Тщательно мойте руки после работы с образцами и компонентами набора и после снятия перчаток.
- Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности в лаборатории свежеприготовленным 0,5%-м раствором гипохлорита натрия или калия в дистиллированной или деионизованной воде, затем протирайте их 70%-м этанолом.
- При разлитии материала в приборе **cobas® 5800** или **cobas® 6800/8800** проведите очистку и деконтаминацию поверхности прибора(ов) в соответствии с инструкциями в Поддержке пользователя системы **cobas® 5800** или систем **cobas® 6800/8800**.

## Сбор, транспортировка и хранение образцов

**Примечание.** Работайте со всеми образцами и контролями как с потенциально инфекционными материалами.

### Образцы плазмы с ЭДТА

- Храните все образцы при рекомендованных температурах. Стабильность образцов снижается при повышенных температурах.
- При работе с замороженными образцами во вторичных пробирках поместите образцы в условия комнатной температуры (15–30 °C) до полного оттаивания, затем недолго перемешайте (например, на вортексе в течение 3–5 секунд) и осадите в центрифуге весь объем образца на дне пробирки.
- Цельная кровь должна быть собрана в пробирки для отделения плазмы BD Vacutainer® PPT™ для молекулярной диагностики или в стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Следуйте инструкциям производителя пробирок. См. Рис. 1.
- Образцы цельной крови, собранные в пробирки для отделения плазмы BD Vacutainer® PPT™ для молекулярной диагностики или в стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта, могут храниться и (или) транспортироваться до 24 часов при температуре 2–25 °C до отделения плазмы. Центрифугирование необходимо проводить в соответствии с инструкциями производителя.
- После отделения плазмы образцы могут храниться до 24 часов при температуре 2–30 °C в первичных или вторичных пробирках, после чего следует соблюдать следующие условия:
  - Хранение в первичных или вторичных пробирках до 6 дней при температуре 2–8 °C.
  - Хранение во вторичных пробирках до 6 месяцев при температуре ≤ –20 °C.
- Образцы плазмы стабильны до четырех циклов оттаивания/замораживания при хранении при температуре ≤ –20 °C.
- Если необходимо транспортировать образцы, они должны быть упакованы и маркированы в соответствии с правилами транспортировки образцов и инфекционных агентов, действующими в вашей стране, и/или международными правилами.

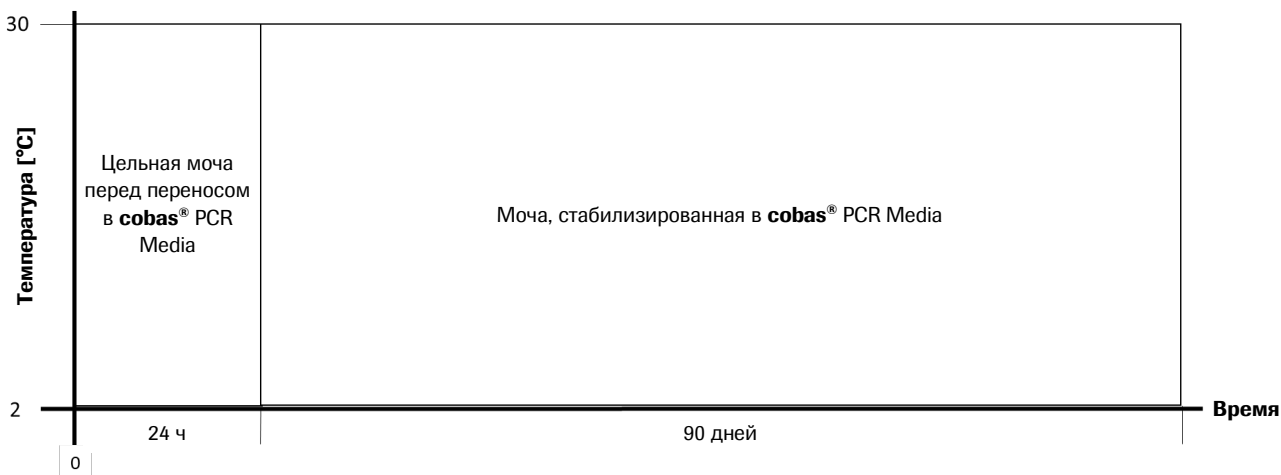
**Рис. 1** Условия хранения образцов плазмы с ЭДТА

## Образцы мочи

- В целях сбора и стабилизации образцов мочи для теста **cobas® BV** используйте только набор **cobas® PCR Urine Sample Kit**. Тест **cobas® BV** не был валидирован для использования с другими приспособлениями для сбора мочи или типами сред. Использование теста **cobas® BV** с другими приспособлениями для сбора мочи или другими типами сред может привести к ложноотрицательным, ложноположительным и/или невалидным результатам.
- Образцы мочи должны быть сразу перенесены в пробирку **cobas® PCR Media** (стабилизированы). Если образцы не могут быть перенесены сразу, они могут храниться при температуре 2–30 °C до 24 часов. После стабилизации образцов мочи в среде **cobas® PCR Media** они могут храниться до 90 дней при температуре 2–30 °C. См. Рис. 2.
- Верхний уровень жидкости нетестированных образцов мочи должен находиться между двумя черными линиями в окне этикетки на пробирке **cobas® PCR Media**. Если уровень жидкости выше или ниже этих линий, образец не был собран надлежащим образом и не может быть использован для тестирования.
- Если для разведения в пробирке **cobas® PCR Urine Sample** недостаточно мочи (менее 4,3 мл), мочу можно развести вручную с помощью **cobas® PCR Media**. Перед тестированием с использованием теста **cobas® BV** требуется не менее 0,5 мл чистой мочи, разведенной вручную в среде **cobas® PCR Media** (в соотношении 1:1).
- Чтобы избежать перекрестного загрязнения обработанных образцов, следует использовать дополнительные крышки для пробирок **cobas® PCR Media** другого цвета (нейтральные; см. **Необходимые дополнительные материалы**) для повторного закрытия образцов после теста.
- Если требуется дополнительное тестирование, убедитесь, что в пробирке **cobas® PCR Media** осталось не менее 1,2 мл образца.

- Если необходимо транспортировать образцы, они должны быть упакованы и маркированы в соответствии с правилами транспортировки образцов и инфекционных агентов, действующими в вашей стране, и/или международными правилами.

**Рис. 2** Условия хранения образцов мочи



## Инструкции по использованию

### Рекомендации по процедуре

- Не используйте реагенты набора cobas® BV, набор контролей cobas® EBV/BKV Control Kit, набор буферных отрицательных контролей cobas® Buffer Negative Control Kit и реагенты cobas® omni после истечения их срока годности.
- Не используйте повторно расходные материалы. Они предназначены только для однократного применения.
- Тест cobas® BV можно проводить с минимальным необходимым объемом образца 350 мкл для плазмы с ЭДТА (обрабатываемый объем образца равен 200 мкл) и 550 мкл для стабилизированной мочи (обрабатываемый объем образца равен 400 мкл).
- Пробирки с образцами должны быть открыты и загружены непосредственно в штативы для обработки в системе cobas® 5800.
- Одна постановка может включать комбинацию образцов (плазма, стабилизированная моча).

### Постановка теста cobas® BV в системах cobas® 5800/6800/8800

- Подробная информация об эксплуатации прибора приведена в Поддержке пользователя системы cobas® 5800 или систем cobas® 6800/8800.
- Инструкции по эксплуатации и обслуживанию приборов приведены в Поддержке пользователя системы cobas® 5800 или систем cobas® 6800/8800.

- Образцы плазмы с ЭДТА и стабилизированной мочи должны обрабатываться посредством выбора типа образца в пользовательском интерфейсе **cobas® BKV**, как описано на Рис. 3 (этап 2) и Рис. 4 (этап 1).
- Убедитесь, что этикетки со штрихкодом на пробирках для образцов видны через отверстия сбоку штативов RD5 или MPA. В Поддержке пользователя системы **cobas® 5800** или систем **cobas® 6800/8800** приведены описания соответствующих штрихкодов и дополнительная информация о загрузке пробирок для образцов.

**Рис. 3** Процедура теста **cobas® BKV** в системе **cobas® 5800**

|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1</b> | Войти в систему<br>Нажать кнопку «Старт», чтобы подготовить систему                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>2</b> | Загрузка образцов в систему: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Загрузить штативы с образцами в систему</li> <li>• Система подготовится автоматически</li> <li>• Задать тесты <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Выбрать «Плазма» для введения образцов плазмы с ЭДТА</li> <li>○ Выбрать «Моча», чтобы задать образцы мочи, собранные в <b>cobas® PCR Media</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Открыть пробирку</li> <li>▪ Перенести пробирку непосредственно в штатив</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>                                                                            |
| <b>3</b> | Пополнение реагентов и расходных материалов по запросу системы: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Загрузить тест-специфичную(ые) кассету(ы) реагентов</li> <li>• Загрузить мини-штативы контролей</li> <li>• Загрузить наконечники обработки</li> <li>• Загрузить наконечники элюата</li> <li>• Загрузить планшеты обработки</li> <li>• Загрузить планшеты для жидких отходов</li> <li>• Загрузить амплификационные планшеты</li> <li>• Загрузить кассету MGP</li> <li>• Пополнить дилуэнт для образцов</li> <li>• Пополнить лизирующий реагент</li> <li>• Пополнить промывочный реагент</li> </ul> |
| <b>4</b> | Запустить постановку нажатием кнопки «Начать обработку» в пользовательском интерфейсе; все последующие постановки будут запускаться автоматически, если запуск не отложен вручную                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>5</b> | Просмотр и экспорт результатов                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>6</b> | Извлеките и закройте все пробирки с образцами, отвечающие требованиям к минимальному объему, если они необходимы для будущего использования<br>Очистка прибора: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Выгрузить пустые мини-штативы контролей</li> <li>• Выгрузить пустую(ые) тест-специфичную(ые) кассету(ы) реагентов</li> <li>• Освободить секцию для амплификационных планшето</li> <li>• Удалить жидкие отходы</li> <li>• Удалить твердые отходы</li> </ul>                                                                                                                                        |

**Рис. 4** Процедура теста **cobas®** BKV в системах **cobas®** 6800/8800

|          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1</b> | <p>Войти в систему</p> <p>Нажать кнопку «Старт», чтобы подготовить систему</p> <p>Задать тесты:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Выбрать «Плазма» для введения образцов плазмы с ЭДТА</li> <li>• Выбрать «Моча», чтобы задать образцы мочи, собранные в <b>cobas®</b> PCR Media</li> </ul>                                                                                                                                                                                                              |
| <b>2</b> | <p>Пополнение реагентов и расходных материалов по запросу системы:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Загрузить тест-специфичную кассету реагентов</li> <li>• Загрузить кассеты с контролями</li> <li>• Загрузить наконечники для дозаторов</li> <li>• Загрузить планшеты обработки</li> <li>• Загрузить реагент MGP</li> <li>• Загрузить амплификационные планшеты</li> <li>• Пополнить дилуэнт для образцов</li> <li>• Пополнить лизирующий реагент</li> <li>• Пополнить промывочный реагент</li> </ul> |
| <b>3</b> | <p>Загрузка образцов в систему:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Для первичных образцов мочи, собранных в <b>cobas®</b> PCR Media <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Открыть пробирку</li> <li>◦ Перенести пробирку непосредственно в штатив</li> </ul> </li> <li>• Загрузить штатив для образцов и штативы с наконечниками в модуль подачи образцов</li> <li>• Подтвердить, что образцы были приняты в модуль переноса образцов</li> </ul>                                                       |
| <b>4</b> | <p>Начните постановку, нажав кнопку «Ручной старт» в пользовательском интерфейсе, в ином случае постановка начнется автоматически через 120 минут или если партия заполнена</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>5</b> | <p>Просмотр и экспорт результатов</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>6</b> | <p>Извлеките и закройте все пробирки с образцами, отвечающие требованиям к минимальному объему, если они необходимы для будущего использования</p> <p>Очистка прибора:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Выгрузить пустые кассеты для контролей</li> <li>• Освободить секцию для амплификационных планшетов</li> <li>• Удалить жидкие отходы</li> <li>• Удалить твердые отходы</li> </ul>                                                                                                                |

## Результаты

Системы **cobas**® 5800/6800/8800 автоматически определяют концентрацию ДНК BKV в образцах и контролях. Концентрация ДНК BKV выражается в Международных единицах на миллилитр (МЕ/мл).

### Контроль качества и валидность результатов в системе **cobas**® 5800 и системах **cobas**® 6800/8800 с программным обеспечением версии 2.0 или более поздней версии

- Один буферный отрицательный контроль **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] и два положительных контроля **cobas**® EBV/BKV Positive Control, низко положительный контроль [EBV/BKV L(+)C] и высоко положительный контроль [EBV/BKV H(+)C] обрабатываются не реже чем каждые 72 часа, и с каждым новым лотом набора. Положительные и (или) отрицательные контроли могут быть включены чаще на основе лабораторных правил и (или) местных нормативных требований.
- Результаты для контролей отображаются в приложении «Контроли».
- В программном обеспечении и (или) в отчете проверьте наличие флагов для подтверждения валидности соответствующих результатов теста (см. «Список кодов флага» в Поддержке пользователя Менеджера данных x800).
- Контроли отмечены как «Валидно» в колонке «Результат для контроля», если соответствующая мишень контроля признана валидной. Контроли отмечены как «Невалидно» в колонке «Результат для контроля», если соответствующая мишень контроля признана невалидной.
- Контроли, отмеченные как «Невалидно», отображаются с флагом в колонке «Флаги». Дополнительные сведения о том, почему контроль отображается невалидным, включая информацию о флаге, доступны в подробном представлении.
- Если один из контролей невалиден, необходимо повторить тестирование всех контролей и всех связанных образцов.

Валидация результатов выполняется программным обеспечением прибора автоматически на основании результатов для контролей.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Система **cobas**® 5800 и системы **cobas**® 6800/8800 с программным обеспечением версии 2.0 или более поздней версии поставляются со стандартными настройками включения набора контролей (положительных и отрицательных) в каждую постановку, но могут быть настроены на менее частое включение с периодичностью до 72 часов в зависимости от лабораторных правил и (или) местных нормативных требований. Обратитесь к инженеру по обслуживанию Roche и (или) в службу технической поддержки Roche за дополнительной информацией.

## Контроль качества и валидность результатов в программном обеспечении версии 1.4 систем cobas® 6800/8800

- Один буферный отрицательный контроль cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] и два положительных контроля cobas® EBV/BKV Positive Control, низко положительный контроль [EBV/BKV L(+)C] и высоко положительный контроль [EBV/BKV H(+)C] присутствуют в каждой партии.
- В программном обеспечении и (или) отчете проверьте наличие флагов и соответствующих им результатов для подтверждения валидности партии.
- Все флаги описаны в Поддержке пользователя систем cobas® 6800/8800.
- Постановка валидна, если ни для одного из контролей нет сигнальных сообщений. Если партия невалидна, необходимо повторить всю процедуру постановки теста.

Валидация результатов выполняется программным обеспечением прибора автоматически на основании результатов для контролей.

## Флаги контролей в системах cobas® 6800/8800 с программным обеспечением версии 1.4

При получении валидных результатов постановки для партии проверьте наличие флагов для каждого отдельного образца в программном обеспечении системы cobas® 5800 и систем cobas® 6800/8800 и (или) отчетах.

Интерпретация результатов должна быть следующей:

- Валидная партия может содержать как валидные, так и невалидные результаты для образцов.

**Табл. 14** Флаги отрицательного и положительных контролей

| Отрицательный контроль | Флаг                                                           | Результат | Интерпретация                                                                                                               |
|------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (-) Ctrl               | Q02<br>(Невалидные результаты постановки для партии контролей) | Invalid   | Невалидный результат, или рассчитанный титр для отрицательного контроля не является негативным.                             |
| Положительный контроль | Флаг                                                           | Результат | Интерпретация                                                                                                               |
| EBV/BKV L (+) C        | Q02<br>(Невалидные результаты постановки для партии контролей) | Invalid   | Невалидный результат, или рассчитанный титр для низкотитражного положительного контроля находится вне заданного диапазона.  |
| EBV/BKV H (+) C        | Q02<br>(Невалидные результаты постановки для партии контролей) | Invalid   | Невалидный результат, или рассчитанный титр для высокотитражного положительного контроля находится вне заданного диапазона. |

## Интерпретация результатов для систем cobas® 5800/6800/8800

При получении валидных результатов постановки для партии проверьте наличие флагов для каждого отдельного образца в программном обеспечении системы cobas® 5800 и систем cobas® 6800/8800 и (или) отчетах.

Интерпретация результатов должна быть следующей:

- Валидная постановка может содержать как валидные, так и невалидные результаты для образцов.

**Табл. 15** Интерпретация результатов по отдельным мишеням

| Результаты               | Интерпретация                                                                                                                                                                                                                                                             |
|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Target Not Detected      | ДНК BVK не обнаружена.<br>Интерпретируйте результат как «BVK не обнаружен».                                                                                                                                                                                               |
| < Titer Min <sup>a</sup> | Рассчитанная концентрация ниже нижнего предела количественного определения (LLoQ) теста.<br>Интерпретируйте результат как «BVK обнаружен, менее (Titer Min)».<br>Минимальная концентрация для плазмы с ЭДТА = 21,5 МЕ/мл<br>Минимальная концентрация для мочи = 200 МЕ/мл |
| Концентрация             | Рассчитанная концентрация находится в пределах линейного диапазона теста: выше или равна минимальной концентрации и меньше или равна максимальной концентрации.<br>Интерпретируйте результат как «(Titer) BVK обнаружено».                                                |
| > Titer Max <sup>b</sup> | Рассчитанная концентрация выше верхнего предела количественного определения (ULoQ) теста.<br>Интерпретируйте результат как «BVK обнаружен, более (Titer Max)».<br>Максимальная концентрация для плазмы с ЭДТА и мочи = 1,0E+08 МЕ/мл                                      |

<sup>a</sup> Результаты образца < Titer Min (мишень обнаружена на уровне < LLoQ [нижний предел количественного определения]) должны интерпретироваться с учетом других клинических данных и не должны быть единственным основанием для принятия решений о лечении.

<sup>b</sup> Результат образца > Titer Max указывает на выявление образца, положительного по BVK в концентрации, превышающей верхний предел количественного определения теста (ULoQ). Если нужно получить количественный результат для образцов плазмы человека с ЭДТА, исходный образец следует развести BVK-негативной плазмой человека с ЭДТА и повторить тестирование. Затем умножьте полученный результат на коэффициент разведения.

## Интерпретация результатов в системе cobas® 5800 и системах cobas® 6800/8800 с программным обеспечением версии 2.0 или более поздней версии

Результаты образцов отображаются в приложении «Результаты» программного обеспечения.

При получении валидных результатов постановки для контрольной партии проверьте наличие флагов для каждого отдельного образца в программном обеспечении и (или) отчете. Интерпретация результатов должна быть следующей:

- Образцы, связанные с валидной постановкой для контрольной партии, отображаются как «Валидно» в колонке «Результат для контроля», если все соответствующие результаты для мишеней контроля признаны валидными. Образцы, связанные с невалидной постановкой для контрольной партии, отображаются как «Невалидно» в колонке «Результат для контроля», если все соответствующие результаты для мишеней контроля признаны невалидными.

- Если связанные с результатом образца контроля невалидны, к результату будет добавлен соответствующий флаг из перечисленных ниже.
  - Q05D: валидность результата не подтверждена из-за наличия невалидного положительного контроля.
  - Q06D: валидность результата не подтверждена из-за наличия невалидного отрицательного контроля.
- Значения в колонке «Результаты» для результата отдельной мишени образца следует интерпретировать как показано в Табл. 15 выше.
- Если одна или несколько мишеней образца отмечены как «Невалидно», в программном обеспечении отобразится флаг в колонке «Флаги». Дополнительные сведения о том, почему мишени образца отображаются невалидными, включая информацию о флаге, доступны в подробном представлении.

## **Интерпретация результатов в системах cobas® 6800/8800 с программным обеспечением версии 1.4**

При получении валидных результатов партии проверьте наличие флагов для каждого отдельного образца в программном обеспечении и (или) отчете. Интерпретация результатов должна быть следующей:

- Образцы получают отметку «Да» в колонке «Валидно», если все требуемые результаты для мишеней признаны валидными. Для образцов с отметкой «Нет» в колонке «Валидно» могут потребоваться дополнительные сведения и действия.
- Значения для результата отдельной мишени образца должны быть интерпретированы как показано в Табл. 15 выше.

## Ограничения процедуры

- Тест **cobas® BKV** валидирован только для работы с набором контролей **cobas® EBV/BKV Control Kit**, набором буферных отрицательных контролей **cobas® Buffer Negative Control Kit**, реагентом **cobas® omni MGP Reagent**, лизирующим реагентом **cobas® omni Lysis Reagent**, дилуентом для образцов **cobas® omni Specimen Diluent** и промывочным реагентом **cobas® omni Wash Reagent** в системах **cobas® 5800/6800/8800**.
- Надежность результатов теста зависит от адекватности сбора, хранения и обработки образцов.
- Данный тест валидирован только для работы с образцами плазмы с ЭДТА и стабилизированной мочи. Тестирование в **cobas® BKV** образцов другого типа может привести к неверным результатам теста. Измерения уровня ДНК в плазме и стабилизированной моче не могут быть напрямую сопоставлены друг с другом и с результатами других типов образцов.
- Количественное определение ДНК BKV зависит от методов сбора образцов, факторов пациента (например, наличие симптомов) и /или стадии инфекции.
- Разложение ДНК BKV в чистой моче может повлиять на количественное определение <sup>17</sup>. Транспортировка мочи в **cobas® PCR Media** необходима для достижения стабильности образца.
- Количественная вариативность ДНК BKV, присущая моче, наблюдалась в экспериментах по исследованию стабильности образца в разные моменты времени отбора образцов (чистая моча) или в разных аликвотах одного и того же образца (чистая моча и моча, стабилизированная в среде **cobas® PCR Media**).
- Учитывая эти ограничения, результаты анализа ДНК BKV в моче следует интерпретировать с осторожностью в контексте клинических и других лабораторных данных, и они не должны быть единственным основанием для принятия решения о лечении.
- Моча может содержать высокие уровни ДНК BKV с риском контаминации при переносе <sup>18</sup>.
- Как и при проведении любого молекулярного теста, мутации в участках вирусного генома, являющихся мишенями теста **cobas® BKV**, могут препятствовать связыванию праймеров или зондов и в результате приводить к заниженной оценке вирусной концентрации или неспособности обнаружить вирус.
- Вследствие естественных различий между технологиями пользователю рекомендуется, прежде чем заменить одну технологию на другую, провести корреляционные испытания для двух методов, чтобы оценить возможные различия между технологиями. Пользователи должны следовать политике и процедурам, принятым в их учреждении.
- Тест **cobas® BKV** не предназначен для применения в качестве скринингового теста на наличие BKV в крови или ее продуктах.

## Доклинические испытания теста

### Эквивалентность систем

Эквивалентность систем **cobas® 5800**, **cobas® 6800** и **cobas® 8800** была подтверждена исследованиями рабочих характеристик. Данные, приведенные в этих инструкциях по использованию, подтверждают одинаковые рабочие характеристики для всех систем.

### Основные характеристики для образцов плазмы с ЭДТА

#### Предел обнаружения (LoD): Международный стандарт ВОЗ

Предел обнаружения теста **cobas® BKV** для 1-го Международного стандарта ВОЗ определяли путем анализа серии разведений 1-го Международного стандарта ВОЗ BKV, полученного от NIBSC (NIBSC 14/212), в BKV-негативной плазме человека с ЭДТА. Панели из шести концентраций, а также пустую пробу тестировали с использованием трех лотов наборов реагентов **cobas® BKV** в нескольких постановках в течение нескольких дней несколькими операторами на нескольких приборах.

Результаты для образцов плазмы с ЭДТА приведены в Табл. 16 — Табл. 18. Полученные результаты продемонстрировали, что при использовании наименее чувствительного лота при тестировании плазмы с ЭДТА концентрация, для которой ожидается частота выявления 95 % по PROBIT, составила 21,5 МЕ/мл; при этом 95%-й доверительный интервал составил 16,3–32,4 МЕ/мл. Наиболее низкая концентрация в образцах плазмы с ЭДТА при частоте выявления  $\geq 95$  % составила 19,0 МЕ/мл.

**Табл. 16** Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА, лот 1

| Номинальная концентрация<br>(ДНК BKV, МЕ/мл) | Число валидных повторов                                    | Число позитивных<br>повторов | Частота выявления, % |
|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------|
| 80,0                                         | 63                                                         | 63                           | 100,0                |
| 38,0                                         | 63                                                         | 63                           | 100,0                |
| 19,0                                         | 63                                                         | 60                           | 95,2                 |
| 9,5                                          | 63                                                         | 46                           | 73,0                 |
| 4,75                                         | 63                                                         | 36                           | 57,1                 |
| 2,38                                         | 63                                                         | 23                           | 36,5                 |
| 0                                            | 62                                                         | 0                            | 0,0                  |
| LoD по PROBIT при частоте<br>выявления 95 %  | 21,5 МЕ/мл<br>Доверительный интервал 95 %: 16,3–32,4 МЕ/мл |                              |                      |

**Табл. 17** Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА, лот 2

| Номинальная концентрация<br>(ДНК BVK, МЕ/мл) | Число валидных повторов                                    | Число позитивных<br>повторов | Частота выявления, % |
|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------|
| 80,0                                         | 62                                                         | 62                           | 100,0                |
| 38,0                                         | 63                                                         | 63                           | 100,0                |
| 19,0                                         | 63                                                         | 61                           | 96,8                 |
| 9,5                                          | 63                                                         | 48                           | 76,2                 |
| 4,75                                         | 63                                                         | 34                           | 54,0                 |
| 2,38                                         | 62                                                         | 23                           | 37,1                 |
| 0                                            | 62                                                         | 0                            | 0,0                  |
| LoD по PROBIT при частоте<br>выявления 95 %  | 19,7 МЕ/мл<br>Доверительный интервал 95 %: 15,0–29,2 МЕ/мл |                              |                      |

**Табл. 18** Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА, лот 3

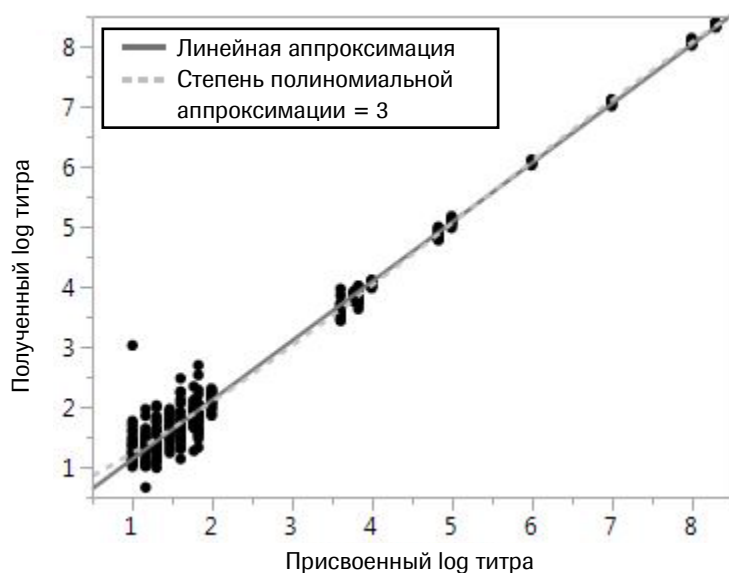
| Номинальная концентрация<br>(ДНК BVK, МЕ/мл) | Число валидных повторов                                    | Число позитивных<br>повторов | Частота выявления, % |
|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------|
| 80,0                                         | 63                                                         | 63                           | 100,0                |
| 38,0                                         | 63                                                         | 63                           | 100,0                |
| 19,0                                         | 63                                                         | 60                           | 95,2                 |
| 9,5                                          | 63                                                         | 50                           | 79,4                 |
| 4,75                                         | 63                                                         | 35                           | 55,6                 |
| 2,38                                         | 63                                                         | 22                           | 35,0                 |
| 0                                            | 63                                                         | 0                            | 0,0                  |
| LoD по PROBIT при частоте<br>выявления 95 %  | 19,3 МЕ/мл<br>Доверительный интервал 95 %: 14,8–28,5 МЕ/мл |                              |                      |

## Линейный диапазон

Линейность теста **cobas® BVK** определяли с использованием серии разведений, состоящей из 18 образцов панели с ДНК BVK подгруппы Ib, перекрывающих линейный диапазон теста. Одиннадцать образцов панели, перекрывающих весь линейный диапазон, готовили из высокотитражной стоковой концентрации ДНК Лямбда. Клинический образец использовали для приготовления семи образцов панели, покрывающих средний и нижний уровни линейного диапазона.

Тестирование проводили в 36 повторах для каждой концентрации с тремя лотами набора реагентов **cobas® BVK**, результаты представлены на Рис. 5.

Линейный диапазон теста **cobas® BVK** при тестировании плазмы человека с ЭДТА составил от 1,01E+01 до 1,97E+08 МЕ/мл при абсолютном отклонении от оптимальной нелинейной регрессии менее или равно  $\pm 0,1 \log_{10}$  (см. Рис. 5). В пределах линейного диапазона точность теста составляет  $\pm 0,2 \log_{10}$ .

**Рис. 5** Линейный диапазон определения в плазме с ЭДТА

## Внутрилабораторная воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas® BKV** определяли методом анализа серии разведений высокотитражной ДНК ВКВ (подгруппа Ib) в ВКВ-негативной плазме с ЭДТА. Всего тестировали пять разведений в 72 повторях для каждого разведения с тремя лотами набора реагентов **cobas® BKV** на четырех приборах с участием двух операторов на протяжении 12 дней. Каждый образец проходил полную постановку теста **cobas® BKV** в полностью автоматизированных системах **cobas® 6800/8800**. Таким образом, данные по воспроизводимости отражают все аспекты тестирования. Полученные результаты приведены в Табл. 19.

Тест **cobas® BKV** продемонстрировал высокую прецизионность для трех лотов набора реагентов, тестируемых в диапазоне концентраций от  $9,83\text{E}+01$  МЕ/мл до  $9,83\text{E}+05$  МЕ/мл.

**Табл. 19** Внутрилабораторная прецизионность теста **cobas® BKV** \*

| Номинальная концентрация [МЕ/мл] | Определенная концентрация [МЕ/мл] | Плазма с ЭДТА |       |       |          |
|----------------------------------|-----------------------------------|---------------|-------|-------|----------|
|                                  |                                   | Лот 1         | Лот 2 | Лот 3 | Все лоты |
|                                  |                                   | CO            | CO    | CO    | Общее CO |
| $1,00\text{E}+06$                | $9,83\text{E}+05$                 | 0,02          | 0,02  | 0,04  | 0,03     |
| $1,00\text{E}+05$                | $9,83\text{E}+04$                 | 0,03          | 0,04  | 0,04  | 0,04     |
| $1,00\text{E}+04$                | $9,83\text{E}+03$                 | 0,04          | 0,05  | 0,03  | 0,04     |
| $6,00\text{E}+03$                | $5,90\text{E}+03$                 | 0,03          | 0,05  | 0,03  | 0,04     |
| $1,00\text{E}+02$                | $9,83\text{E}+01$                 | 0,09          | 0,11  | 0,11  | 0,11     |

\* Значения концентраций рассматривали как имеющие log-нормальное распределение и анализировали выраженными в  $\log_{10}$ . Столбцы со значениями стандартного отклонения (CO) представляют значения концентрации в логарифмической шкале для каждого из трех лотов набора реагентов.

## Верификация субтипов

Способность теста cobas® BKV выявлять субтипы I (включая подгруппы Ia и Ic), II, III и IV BKV определяли указанными ниже методами:

- Верификация предела обнаружения
- Верификация линейного диапазона

### Верификация предела обнаружения для субтипов I (включая подгруппы Ia и Ic), II, III и IV вируса

ДНК BKV пяти различных субтипов/подгрупп (Ia, Ic, II, III и IV) разводили до трех разных концентраций в BKV-негативной плазме с ЭДТА. Частоту выявления определяли при тестировании в 63 повторях для каждой концентрации. Тестирование проводили с использованием трех лотов набора реагентов теста cobas® BKV в нескольких постановках в течение нескольких дней несколькими операторами на нескольких приборах. Результаты подтверждают, что тест cobas® BKV позволяет обнаружить ДНК BKV пяти разных субтипов/подгрупп в концентрации, равной 21,5 МЕ/мл, с частотой выявления  $\geq 95\%$ .

### Верификация линейного диапазона для субтипов I (включая подгруппы Ia и Ic), II, III и IV вируса

Для верификации линейности теста cobas® BKV для разных субтипов/подгрупп вируса использовали серии разведений, состоящие из восьми образцов панели, перекрывающих линейный диапазон теста. Тестирование проводили с тремя лотами набора реагентов cobas® BKV; каждую концентрацию тестировали в образцах плазмы с ЭДТА в 12 повторях.

Линейный диапазон теста cobas® BKV был подтвержден для всех пяти субтипов/подгрупп вируса (Ia, Ic, II, III и IV).

## Специфичность

Специфичность теста cobas® BKV определяли методом тестирования BKV-негативных образцов плазмы с ЭДТА от индивидуальных доноров. Всего тестировали 104 индивидуальных образца плазмы с ЭДТА с использованием трех лотов набора реагентов cobas® BKV. Все образцы оказались отрицательными по ДНК BKV. При тестировании данной панели образцов специфичность теста cobas® BKV составила 100 % (нижний предел одностороннего 95%-го доверительного интервала: 97,16 %).

## Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность теста **cobas® BKV** определяли путем тестирования панели образцов микроорганизмов при концентрации 1,00E+06 единиц/мл (КОЕ/мл, клеток/мл, ЦОЕ/мл, ИЕ/мл) для бактерий и дрожжей и при концентрации от 1,00E+05 единиц/мл до 1,00E+06 единиц/мл (копий/мл, ИТД<sub>50</sub>/мл, МЕ/мл, клеток/мл) для вирусов. Микроорганизмы разводили в плазме человека с ЭДТА, отрицательной по ДНК BКV, а также в плазме человека с ЭДТА, содержащей 100 МЕ/мл ДНК BКV. Тестировавшиеся микроорганизмы приведены в Табл. 20. Каждый образец тестировали в трех повторях. Ни один из тестируемых микроорганизмов, не относящихся к BКV, не оказывал интерферирующего влияния на результаты теста в тестируемых концентрациях. Отрицательный результат в тесте **cobas® BКV** был получен для всех микроорганизмов в образцах без BКV, положительный результат был получен для всех микроорганизмов, тестируемых в присутствии BКV. Кроме того, средний log<sub>10</sub> титра каждого BКV-позитивного образца, содержащего потенциально кросс-реактивные микроорганизмы, находился в пределах  $\pm 0,5 \log_{10}$  от среднего log<sub>10</sub> титра соответствующего положительного образца.

**Табл. 20** Микроорганизмы, тестируемые для определения перекрестной реактивности

| Вирусы                          | Бактерии                          | Дрожжи                         |
|---------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| Аденовирус типа 5               | <i>Propionibacterium acnes</i>    | <i>Aspergillus niger</i>       |
| Цитомегаловирус                 | <i>Staphylococcus aureus</i>      | <i>Candida albicans</i>        |
| Вирус Эпштейна – Барр           | <i>Chlamydia trachomatis</i>      | <i>Cryptococcus neoformans</i> |
| Вирус гепатита В                | <i>Clostridium perfringens</i>    | -                              |
| Вирус гепатита С                | <i>Enterococcus faecalis</i>      | -                              |
| Вирус простого герпеса типа 1   | <i>Escherichia coli</i>           | -                              |
| Вирус простого герпеса типа 2   | <i>Klebsiella pneumoniae</i>      | -                              |
| Вирус герпеса человека типа 6   | <i>Listeria monocytogenes</i>     | -                              |
| Вирус герпеса человека типа 7   | <i>Mycobacterium avium</i>        | -                              |
| Вирус герпеса человека типа 8   | <i>Neisseria gonorrhoeae</i>      | -                              |
| Вирус иммунодефицита человека 1 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | -                              |
| Вирус иммунодефицита человека 2 | <i>Streptococcus pyogenes</i>     | -                              |
| Папилломавирус человека         | <i>Mycoplasma pneumoniae</i>      | -                              |
| Вирус JC (Джона Каннингема)     | <i>Salmonella enterica</i>        | -                              |
| Парвовирус В19                  | <i>Streptococcus pneumoniae</i>   | -                              |
| Обезьяний вирус sv40            | -                                 | -                              |
| Вирус варицелла зостер          | -                                 | -                              |

## Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества

Образцы с повышенными уровнями триглицеридов (33 г/л), прямого билирубина (0,2 г/л), непрямого билирубина (0,2 г/л), альбумина (60 г/л), гемоглобина (2 г/л) и ДНК человека (2 мг/л) тестировали в присутствии (100 МЕ/мл) и в отсутствие ДНК BVK. Было показано, что протестированные эндогенные вещества не оказывали интерферирующего влияния на результаты теста **cobas® BVK**.

Кроме того, лекарственные препараты, приведенные в Табл. 21, тестировали в концентрациях, превышающих в три раза  $C_{\text{max}}$ , в присутствии и в отсутствие ДНК BVK.

Все потенциально интерферирующие препараты не оказывали интерферирующего влияния на результаты теста. Отрицательный результат в тесте **cobas® BVK** был получен для всех образцов без BVK, положительный результат был получен для всех образцов, тестировавшихся в присутствии BVK. Кроме того, средний  $\log_{10}$  титра каждого BVK-позитивного образца, содержащего потенциально интерферирующие вещества, находился в пределах  $\pm 0,5 \log_{10}$  среднего  $\log_{10}$  титра соответствующего положительного образца.

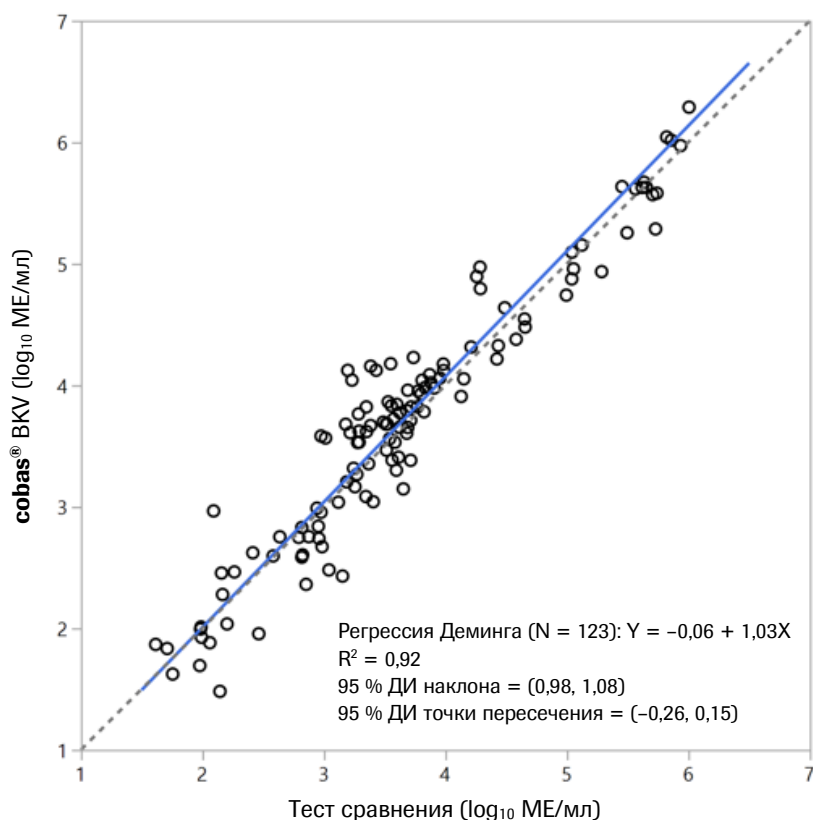
**Табл. 21** Лекарственные препараты, тестировавшиеся для выявления интерферирующего влияния на количественное определение ДНК BVK в тесте **cobas® BVK**

| Класс лекарственного препарата               | Международное непатентованное название препарата |                          |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------|
| Антимикробный препарат                       | Цефотетан                                        | Сульфаметоксазол         |
|                                              | Калия клавуланат                                 | Двунатриевый тикарциллин |
|                                              | Флуконазол                                       | Триметоприм              |
|                                              | Пиперациллин                                     | Ванкомицин               |
|                                              | Натрия тазобактам                                | Микафунгин               |
| Препараты для лечения герпетических инфекций | Ганцикловир                                      | Цидофовир                |
|                                              | Валганцикловир                                   | Фоскарнет                |
|                                              | Ацикловир                                        | Летермовир               |
| Иммунодепрессант                             | Азатиоприн                                       | Преднизон                |
|                                              | Циклоспорин                                      | Сиролимус                |
|                                              | Эверолимус                                       | Такролимус               |
|                                              | Мофетила микофенолат                             | Микофеноловая кислота    |

## Корреляция методов

Сравнительный анализ характеристик теста **cobas® BVK** и теста сравнения проводили методом анализа образцов плазмы с ЭДТА от BVK-инфицированных пациентов. Образцы плазмы с ЭДТА, значения уровней ДНК вируса в которых находились в пределах диапазона количественного определения обоих тестов, тестировали в одном повторе. Для полученных результатов был проведен регрессионный анализ методом Деминга.

Результаты анализа методом регрессии Деминга приведены на Рис. 6.

**Рис. 6** Регрессионный анализ результатов теста **cobas® BKV** и теста сравнения

## Системные ошибки

Частоту системной ошибки для теста **cobas® BKV** определяли при тестировании в 100 повторях образцов плазмы с ЭДТА, в которую вносили положительный по BKV клинический образец. Полученные образцы тестировали в концентрации  $3 \times \text{LoD}$ .

Результаты исследования показали, что все повторы дали валидный результат, положительный по BKV, при этом частота системной ошибки составила 0 % (верхний предел одностороннего 95%-го доверительного интервала: 2,95 %).

## Перекрестная контаминация

Частоту перекрестной контаминации в тесте **cobas® BKV** определяли при тестировании BKV-негативного матрикса в 240 повторях и высокотитражного образца ДНК BKV с приблизительным титром  $2,00\text{E}+07$  МЕ/мл в 225 повторях. Всего было проведено пять постановок, в которых положительные и отрицательные образцы были расставлены в шахматном порядке.

Все 240 повторов отрицательных образцов дали отрицательный результат, таким образом, частота перекрестной контаминации составила 0 % (верхний предел одностороннего 95%-го доверительного интервала: 1,24 %).

## Основные характеристики для образцов мочи

### Предел обнаружения (LoD): Международный стандарт ВОЗ

Предел обнаружения теста cobas® BKV для Международного стандарта ВОЗ определяли путем анализа серии разведений 1-го Международного стандарта ВОЗ BКV, полученного от NIBSC (NIBSC 14/212), в BКV-негативной пулированной моче, стабилизированной в cobas® PCR Media. Панели из шести концентраций, а также пустую пробу тестировали с использованием трех лотов наборов реагентов cobas® BКV в нескольких постановках в течение нескольких дней несколькими операторами на нескольких приборах.

Результаты тестирования пулированной мочи, стабилизированной в среде cobas® PCR Media приведены в Табл. 22 — Табл. 24. Полученные результаты продемонстрировали, что при использовании наименее чувствительного лота при тестировании чистой мочи концентрация, для которой ожидается частота выявления 95 % по PROBIT, составила 12,2 МЕ/мл; при этом 95%-й доверительный интервал составил 9,2–18,3 МЕ/мл. Наиболее низкая концентрация в образцах чистой мочи при частоте выявления  $\geq 95$  % составила 10,0 МЕ/мл.

**Табл. 22** Предел обнаружения для образцов мочи, лот 1

| Номинальная концентрация (ДНК BКV, МЕ/мл) * | Число валидных повторов                                   | Число позитивных повторов | Частота выявления, % |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------|
| 40,0                                        | 63                                                        | 63                        | 100,0                |
| 20,0                                        | 63                                                        | 63                        | 100,0                |
| 10,0                                        | 63                                                        | 60                        | 95,2                 |
| 5,0                                         | 63                                                        | 47                        | 74,6                 |
| 2,5                                         | 63                                                        | 25                        | 39,7                 |
| 1,25                                        | 63                                                        | 26                        | 41,3                 |
| 0                                           | 63                                                        | 0                         | 0,0                  |
| LoD по PROBIT при частоте выявления 95 %    | 12,2 МЕ/мл<br>Доверительный интервал 95 %: 9,2–18,3 МЕ/мл |                           |                      |

\* Тестируемые образцы мочи, стабилизированные в среде cobas® PCR Media. Номинальная концентрация, используемая для расчета на основе чистой мочи.

**Табл. 23** Предел обнаружения для образцов мочи, лот 2

| Номинальная концентрация (ДНК ВКВ, МЕ/мл) * | Число валидных повторов                                   | Число позитивных повторов | Частота выявления, % |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------|
| 40,0                                        | 63                                                        | 63                        | 100,0                |
| 20,0                                        | 63                                                        | 63                        | 100,0                |
| 10,0                                        | 63                                                        | 60                        | 95,2                 |
| 5,0                                         | 63                                                        | 42                        | 66,7                 |
| 2,5                                         | 63                                                        | 32                        | 50,8                 |
| 1,25                                        | 63                                                        | 17                        | 27,0                 |
| 0                                           | 63                                                        | 0                         | 0,0                  |
| LoD по PROBIT при частоте выявления 95 %    | 11,9 МЕ/мл<br>Доверительный интервал 95 %: 9,2–17,3 МЕ/мл |                           |                      |

\* Тестируемые образцы мочи, стабилизированные в среде **cobas®** PCR Media. Номинальная концентрация, используемая для расчета на основе чистой мочи.

**Табл. 24** Предел обнаружения для образцов мочи, лот 3

| Номинальная концентрация (ДНК ВКВ, МЕ/мл) * | Число валидных повторов                                   | Число позитивных повторов | Частота выявления, % |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------|
| 40,0                                        | 63                                                        | 63                        | 100,0                |
| 20,0                                        | 63                                                        | 63                        | 100,0                |
| 10,0                                        | 63                                                        | 61                        | 96,8                 |
| 5,0                                         | 63                                                        | 46                        | 73,0                 |
| 2,5                                         | 63                                                        | 39                        | 61,9                 |
| 1,25                                        | 63                                                        | 19                        | 30,2                 |
| 0                                           | 63                                                        | 0                         | 0,0                  |
| LoD по PROBIT при частоте выявления 95 %    | 10,1 МЕ/мл<br>Доверительный интервал 95 %: 7,8–14,7 МЕ/мл |                           |                      |

\* Тестируемые образцы мочи, стабилизированные в среде **cobas®** PCR Media. Номинальная концентрация, используемая для расчета на основе чистой мочи.

## Линейный диапазон

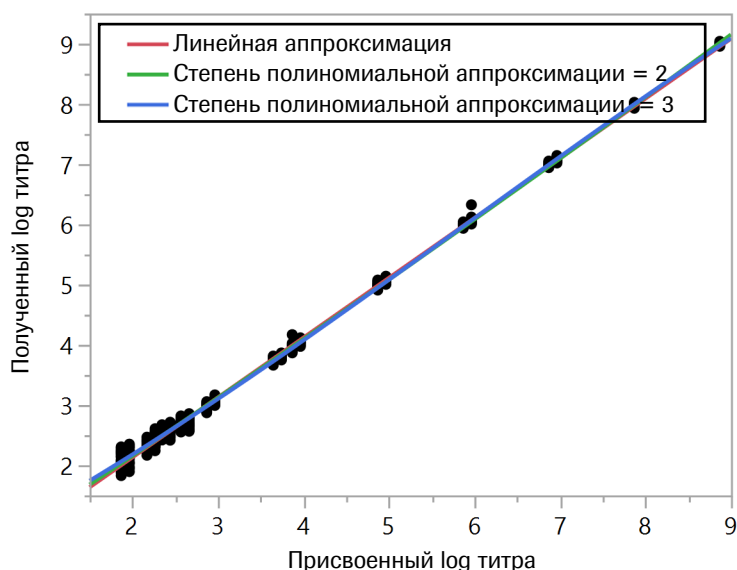
Линейность теста **cobas®** BKV определяли с использованием серии разведений, клинического образца (подгруппа Ib BKV), при этом 10 членов полученной панели перекрывали линейный диапазон теста. Двенадцать образцов панели, перекрывающих весь линейный диапазон, готовили из высокотитражной стоковой концентрации ДНК Лямбда.

Тестирование проводили в 36 повторах для каждой концентрации с тремя лотами набора реагентов **cobas®** BKV, результаты представлены на Рис. 7.

Было продемонстрировано, что тест **cobas®** BKV является линейным в диапазоне от 7,41E+01 МЕ/мл до 7,41E+08 МЕ/мл при абсолютном отклонении от оптимальной нелинейной регрессии менее или равно  $\pm 0,1 \log_{10}$

в пулированной моче, стабилизированной в среде cobas® PCR Media (см. Рис. 7). В пределах линейного диапазона точность теста составляет  $\pm 0,2 \log_{10}$ .

**Рис. 7** Линейный диапазон определения в моче



## Внутрилабораторная воспроизводимость

Воспроизводимость теста cobas® BKV определяли методом анализа серии разведений высокотитражной ДНК BKV (подгруппа Ib) в BKV-негативной пулированной моче, стабилизированной в cobas® PCR Media. Всего тестировали пять разведений в 72 повторях для каждого разведения с тремя лотами набора реагентов cobas® BKV на двух приборах с участием двух операторов на протяжении 12 дней. Каждый образец проходил полную постановку теста cobas® BKV в полностью автоматизированных системах cobas® 6800/8800. Таким образом, данные по воспроизводимости отражают все аспекты тестирования. Полученные результаты приведены в Табл. 25.

Тест cobas® BKV продемонстрировал высокую прецизионность для трех лотов набора реагентов, тестируемых в диапазоне концентраций от  $7,41 \times 10^2$  МЕ/мл до  $7,41 \times 10^5$  МЕ/мл.

**Табл. 25** Внутрिलाбораторная прецизионность теста **cobas® BKV** \*

| Номинальная концентрация [МЕ/мл] | Определенная концентрация [МЕ/мл] | Моча, стабилизированная в <b>cobas® PCR Media</b> |       |       |          |
|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------|-------|-------|----------|
|                                  |                                   | Лот 1                                             | Лот 2 | Лот 3 | Все лоты |
|                                  |                                   | CO                                                | CO    | CO    | Общее CO |
| 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     |

\* Значения концентраций рассматривали как имеющие log-нормальное распределение и анализировали выраженными в  $\log_{10}$ . Столбцы со значениями стандартного отклонения (CO) представляют значения концентрации в логарифмической шкале для каждого из трех лотов набора реагентов.

## Верификация субтипов

Способность теста **cobas® BKV** выявлять субтипы I (включая подгруппы Ia и Ic), II, III и IV **BKV** определяли указанными ниже методами:

- Верификация предела обнаружения
- Верификация линейного диапазона

### Верификация предела обнаружения для субтипов I (включая подгруппы Ia и Ic), II, III и IV вируса

ДНК **BKV** пяти различных субтипов/подгрупп (Ia, Ic, II, III и IV) разводили до трех разных концентраций в **BKV**-негативной пулированной моче, стабилизированной в **cobas® PCR Media**. Частоту выявления определяли при тестировании в 63 повторях для каждой концентрации. Тестирование проводили с использованием трех лотов набора реагентов теста **cobas® BKV** в нескольких постановках в течение нескольких дней несколькими операторами на нескольких приборах. Результаты подтверждают, что тест **cobas® BKV** позволяет обнаружить ДНК **BKV** пяти разных субтипов/подгрупп в концентрации, равной 12,2 МЕ/мл, с частотой выявления  $\geq 95\%$ .

### Верификация линейного диапазона для субтипов I (включая подгруппы Ia и Ic), II, III и IV вируса

Для верификации линейности теста **cobas® BKV** для разных субтипов/подгрупп вируса использовали серии разведений, состоящие из восьми образцов панели, перекрывающих линейный диапазон теста. Тестирование проводили с тремя лотами набора реагентов **cobas® BKV**; каждую концентрацию тестировали в образцах мочи, стабилизированной в **cobas® PCR Media**, в 12 повторях.

Линейный диапазон теста **cobas® BKV** был подтвержден для всех пяти субтипов/подгрупп вируса (Ia, Ic, II, III и IV).

## Специфичность

Специфичность теста **cobas® BKV** определяли методом тестирования BКV-негативных образцов мочи, стабилизированной в **cobas® PCR Media**, от индивидуальных доноров. Всего тестировали 100 индивидуальных образцов мочи с использованием трех лотов набора реагентов **cobas® BKV**. Все образцы оказались отрицательными по ДНК BКV. При тестировании данной панели образцов специфичность теста **cobas® BKV** составила 100 % (нижний предел одностороннего 95%-го доверительного интервала: 97,05 %).

## Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность теста **cobas® BKV** определяли путем тестирования панели образцов микроорганизмов в диапазоне концентраций от 1,00E+06 единиц/мл до 2,00E+06 единиц/мл (КОЕ/мл, клеток/мл, ЦОЕ/мл, ИЕ/мл) для бактерий и дрожжей и в концентрации 1,00E+05 единиц/мл (копий/мл, ИТД<sub>50</sub>/мл, МЕ/мл, клеток/мл) для вирусов. Микроорганизмы разводили в моче, отрицательной по ДНК BКV, а также в моче, содержащей 600 МЕ/мл ДНК BКV. Тестируемые микроорганизмы приведены в Табл. 26. Каждый образец тестировали в трех повторах. Ни один из тестируемых микроорганизмов, не относящихся к BКV, не оказывал интерферирующего влияния на результаты теста в тестируемых концентрациях. Отрицательный результат в тесте **cobas® BKV** был получен для всех микроорганизмов в образцах без BКV, положительный результат был получен для всех микроорганизмов, тестируемых в присутствии BКV. Кроме того, средний  $\log_{10}$  титра каждого BКV-позитивного образца, содержащего потенциально кросс-реактивные микроорганизмы, находился в пределах  $\pm 0,5 \log_{10}$  от среднего  $\log_{10}$  титра соответствующего положительного образца.

**Табл. 26** Микроорганизмы, тестируемые для определения перекрестной реактивности

| Вирусы                        | Бактерии                           | Бактерии                             | Дрожжи                      |
|-------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| Вирус простого герпеса типа 2 | <i>Bacillus cereus</i>             | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>        | <i>Candida albicans</i>     |
| Папилломавирус человека 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>         | -                                    | -                           |

### Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества

Повышенные уровни альбумина (0,5 % м/о), конъюгированного билирубина (1 % м/о), глюкозы (1 % м/о), мононуклеарных клеток периферической крови ( $1,00 \times 10^6$  клеток/мл), слизи (в присутствии 1 мазка слизи на 4,3 мл образца), кислого pH (pH4), щелочного pH (pH9), спермы (1 мазок, погруженный в сперму на 4,3 мл образца), натрия (300 мЭкв/л) и цельной крови (10 % о/о) в образцах тестировали в присутствии (600 МЕ/мл) и в отсутствие ДНК ВКВ. Было показано, что протестированные эндогенные вещества не оказывали интерферирующего влияния на результаты теста cobas® BKV.

Кроме того, лекарственные препараты, приведенные в Табл. 27, тестировали в присутствии и в отсутствие ДНК ВКВ.

Все потенциально интерферирующие вещества не оказывали интерферирующего влияния на результаты теста, за исключением порошкообразного талька. Порошкообразный тальк в концентрации  $\leq 0,05$  % не оказывал интерферирующего влияния на cobas® BKV. Отрицательный результат в тесте cobas® BKV был получен для всех образцов без ВКВ, положительный результат был получен для всех образцов, тестируемых в присутствии ВКВ. Кроме того, средний  $\log_{10}$  титра каждого ВКВ-позитивного образца, содержащего потенциально интерферирующие вещества, находился в пределах  $\pm 0,5 \log_{10}$  среднего  $\log_{10}$  титра соответствующего положительного образца.

**Табл. 27** Лекарственные препараты, тестируемые для выявления интерферирующего влияния на количественное определение ДНК BKV в тесте **cobas® BKV**

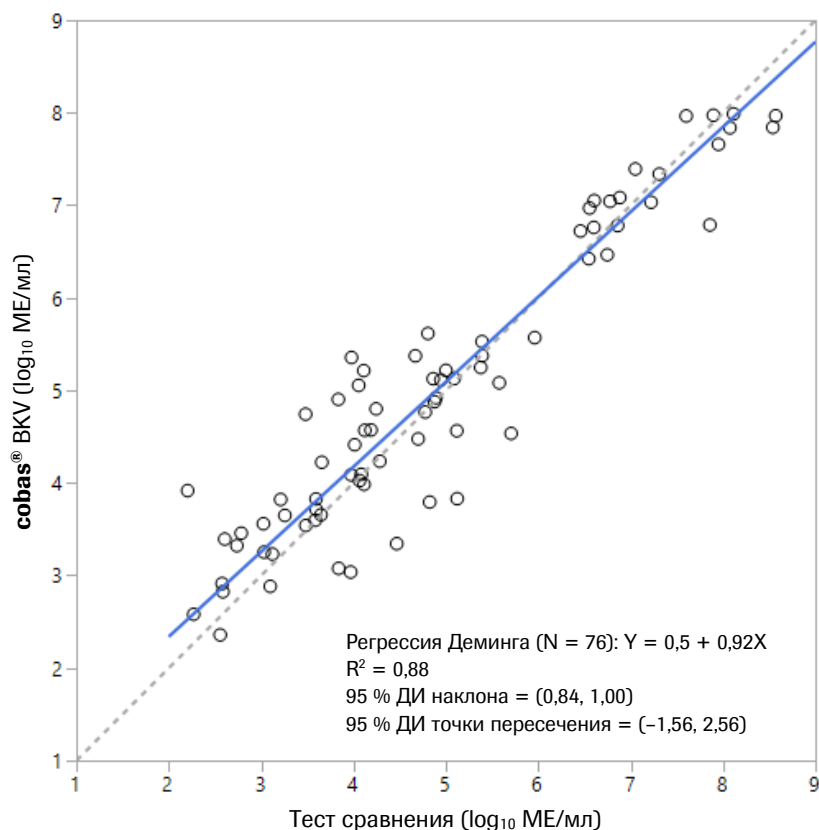
| Класс лекарственного препарата              | Активный ингредиент       | Концентрация  | Международное непатентованное название препарата                            |
|---------------------------------------------|---------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Антимикробный препарат                      | Клотримазол               | 100 мкг/мл    | Гине-Лотримин 7                                                             |
|                                             | Метронидазол              | 701 мкмоль/л  | Арилин рапид<br>Вагинальные суппозитории<br>Крем Vagi Metro<br>Гель Nidazea |
| Стероидный гормон эстроген                  | Эстрадиол                 | 4,41 нмоль/л  | Estrace                                                                     |
| Анальгетики                                 | Феназопиридин гидрохлорид | 200 мкг/мл    | Azo Standard                                                                |
|                                             | Ацетаминофен              | 1324 мкмоль/л | Ацетаминофен                                                                |
| Лубрикант                                   | Пропиленгликоль           | 1000 мкг/мл   | K-Y UltraGel                                                                |
| Нестероидный противовоспалительный препарат | Ацетилсалициловая кислота | 3,62 ммоль/л  | Ацетилсалициловая кислота                                                   |
|                                             | Напроксен                 | 2170 мкмоль/л | Напроксен                                                                   |
|                                             | Ибупрофен                 | 2425 мкмоль/л | Ибупрофен                                                                   |
| Неприменимо                                 | Тальк                     | 0,05 % (м/о)  | Тальк, порошок                                                              |

## Корреляция методов

Сравнительный анализ характеристик теста cobas® BKV и теста сравнения проводили методом анализа образцов мочи от BКV-инфицированных пациентов. Образцы мочи, значения уровней ДНК вируса в которых находились в пределах диапазона количественного определения обоих тестов, тестировали в одном повторе. Для полученных результатов был проведен регрессионный анализ методом Деминга.

Результаты анализа методом регрессии Деминга приведены на Рис. 8.

**Рис. 8** Регрессионный анализ результатов теста cobas® BKV и теста сравнения



## Перекрестная контаминация

Частоту перекрестной контаминации в тесте cobas® BKV определяли при тестировании BКV-негативного матрикса в 240 повторах и высокотитражного образца ДНК BКV с приблизительным титром  $1,00E+09$  МЕ/мл в 225 повторах. Всего было проведено пять постановок, в которых положительные и отрицательные образцы были расставлены в шахматном порядке.

Все 240 повторов отрицательных образцов дали отрицательный результат, таким образом, частота перекрестной контаминации составила 0,0 % (верхний предел одностороннего 95%-го доверительного интервала: 1,24 %).

## Клинические испытания теста

### Воспроизводимость теста cobas® BКV для образцов плазмы с ЭДТА

Воспроизводимость теста cobas® BКV была оценена по множеству факторов (лот набора реагентов, лаборатория, постанова и дни тестирования), которые могли повлиять на полученные результаты рутинного клинического тестирования. Оценка проводилась в 3 испытательных лабораториях с использованием 3 лотов набора реагентов панели из положительных и отрицательных образцов, в результате чего общее количество тестов на концентрацию составляло 270 (не включая контроли). Панели были приготовлены с использованием плазмы с ЭДТА, не содержащей IgG к VCA BКV, протестированы на BКV методом NAT для плазмы в соответствии с протоколом, после чего в них внесли международный стандарт ВОЗ для BКV или ДНК культивированного вируса BКV с генотипом Ib (наиболее распространенный генотип). Два оператора в каждой лаборатории тестировали каждый лот набора реагентов на протяжении 5 дней. Каждый день выполнялось две постановки (1 тест = 1 постанова; 1 постанова = 1 панель + 3 контроля) с 3 повторами для каждого образца панели при каждой постановке. Результаты оценки приведены в Табл. 28.

**Табл. 28** Процентные доли общей дисперсии (%ОВ), стандартное отклонение (СО) общей прецизионности и логнормальный KB (%) концентрации ДНК BКV ( $\log_{10}$  МЕ/мл) положительного образца панели

| Ожидаемая концентрация ДНК BКV ( $\log_{10}$ МЕ/мл) | Наблюдаемая сред. <sup>а</sup> концентрация ДНК BКV ( $\log_{10}$ МЕ/мл) | Количество тестов <sup>б</sup> | Лот %ОВ <sup>в</sup> (KB, %) <sup>г</sup> | Лаборатория %ОВ <sup>в</sup> (KB, %) <sup>г</sup> | День/оператор %ОВ <sup>в</sup> (KB, %) <sup>г</sup> | Партия %ОВ <sup>в</sup> (KB, %) <sup>г</sup> | Внутри партии %ОВ <sup>в</sup> (KB, %) <sup>г</sup> | Общая прецизионность СО <sup>д</sup> | Общая воспроизводимость, логнормальный KB (%) <sup>г</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>а</sup> Рассчитано с использованием процедуры SAS MIXED.

<sup>б</sup> Количество валидных тестов с детектируемым уровнем ДНК.

<sup>в</sup> %ОВ = процентный вклад в общую дисперсию.

<sup>г</sup> KB % = логнормальный процентный коэффициент вариации = кор. кв. ( $10^{[CO^2 \times \ln(10)]} - 1$ )  $\times$  100.

<sup>д</sup> С учетом общей вариации, полученной в ходе процедуры SAS MIXED.

Примечание. В таблице представлены только результаты с детектируемым уровнем ДНК. СО — стандартное отклонение; KB — коэффициент вариации; BКV — вирус BК.

Тест **cobas® BKV** показал приемлемую клиническую воспроизводимость для концентраций на протяжении линейного диапазона. Кроме того, система обнаружила 100 % образцов с концентрацией  $3 \times \text{LLoQ}$ . Обе системы, **cobas® 6800** и **cobas® 8800**, имеют модульную конструкцию и продемонстрировали эквивалентность при использовании теста **cobas® BKV**. Все оцениваемые значения 95%-го доверительного интервала (ДИ) различий между 2 измерениями образцов от одного и того же субъекта находились в диапазоне  $\pm 0,84 \log_{10} \text{ ME/мл}$ , и это указывает на то, что с помощью теста можно оценить изменения уровней ДНК BKV, которые считаются клинически значимыми.

Из 270 валидных тестов для отрицательных образцов панели, выполненных в системах **cobas® 6800/8800**, для всех образцов был получен результат «Target Not Detected» (Мишень не выявлена), таким образом, значение процента согласованности отрицательных результатов (PCO) составило 100 % при точном 95 % ДИ от 98,6 % до 100 %.

## Испытание теста **cobas® BKV** для образцов плазмы с ЭДТА

Клиническое испытание теста **cobas® BKV** было дополнительно проведено в трех лабораториях путем измерения уровней ДНК BKV в клинических образцах (как неразведенных, так и разведенных) инфицированных и не инфицированных BKV пациентов и в искусственных образцах плазмы с ЭДТА, в которые вносили культивированный вирус BKV, в сравнении с хорошо зарекомендовавшим себя лабораторным тестом на нуклеиновые кислоты (LDT) (тест сравнения BKV LDT). Из всех образцов, протестированных с использованием **cobas® BKV** и теста сравнения BKV, в общей сложности 550 образцов (217 неразведенных и 303 разведенных образцов от 129 субъектов после трансплантации и 30 искусственных образцов) были признаны валидными в ходе обоих тестов и подходящими для клинического анализа согласованности (Табл. 29).

**Табл. 29** Анализ согласованности теста **cobas® BKV** и теста сравнения LDT по результатам определения уровня ДНК BKV для всех образцов

| <b>cobas® BKV</b><br>(log <sub>10</sub> ME/мл) | <b>Тест</b><br><b>сравнения</b><br><b>BKV LDT</b><br>(log <sub>10</sub> ME/мл)<br><b>Target Not</b><br><b>Detected</b> | <b>Тест</b><br><b>сравнения</b><br><b>BKV LDT</b><br>(log <sub>10</sub> ME/мл)<br><b>&lt; LLoQ</b><br><b>(&lt; 2,3)</b> | <b>Тест</b><br><b>сравнения</b><br><b>BKV LDT</b><br>(log <sub>10</sub> ME/мл)<br><b>От 2,3 до &lt; 3,0</b> | <b>Тест</b><br><b>сравнения</b><br><b>BKV LDT</b><br>(log <sub>10</sub> ME/мл)<br><b>От 3,0 до &lt; 3,7</b> | <b>Тест</b><br><b>сравнения</b><br><b>BKV LDT</b><br>(log <sub>10</sub> ME/мл)<br><b>От 3,7 до 4,4</b> | <b>Тест</b><br><b>сравнения</b><br><b>BKV LDT</b><br>(log <sub>10</sub> ME/мл)<br><b>&gt; 4,4</b> | <b>Всего</b> |
|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Target Not Detected                            | 107                                                                                                                    | 7                                                                                                                       | 5                                                                                                           | 0                                                                                                           | 0                                                                                                      | 0                                                                                                 | 119          |
| < LLoQ (< 2,3)                                 | 23                                                                                                                     | 51                                                                                                                      | 39                                                                                                          | 0                                                                                                           | 0                                                                                                      | 0                                                                                                 | 113          |
| От 2,3 до < 3,0                                | 0                                                                                                                      | 3                                                                                                                       | 40                                                                                                          | 62                                                                                                          | 1                                                                                                      | 0                                                                                                 | 106          |
| От 3,0 до < 3,7                                | 0                                                                                                                      | 0                                                                                                                       | 1                                                                                                           | 71                                                                                                          | 42                                                                                                     | 0                                                                                                 | 114          |
| От 3,7 до 4,4                                  | 0                                                                                                                      | 0                                                                                                                       | 0                                                                                                           | 0                                                                                                           | 26                                                                                                     | 26                                                                                                | 52           |
| > 4,4                                          | 0                                                                                                                      | 0                                                                                                                       | 0                                                                                                           | 0                                                                                                           | 1                                                                                                      | 45                                                                                                | 46           |
| Всего                                          | 130                                                                                                                    | 61                                                                                                                      | 85                                                                                                          | 133                                                                                                         | 70                                                                                                     | 71                                                                                                | 550          |
| Согласованность<br>в колонке (%)               | (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 %                                                                                | -            |
| (95 % Score ДИ) <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 %)                                                                                 | -            |

Примечание. ДИ — доверительный интервал; LLoQ — нижний предел количественного определения теста сравнения BKV LDT (200 ME/мл = 2,3 log<sub>10</sub> ME/мл). Стандартное отклонение для теста сравнения BKV LDT оценивается как 0,37 log<sub>10</sub> ME/мл (исследование аналитической воспроизводимости теста BKV LDT из Индианского университета). Концентрация анализируемого вещества 3,0 log<sub>10</sub> ME/мл соответствовала LLoQ + 2σ, 3,7 log<sub>10</sub> ME/мл соответствовала LLoQ + 4σ и 4,4 log<sub>10</sub> ME/мл соответствовала LLoQ + 6σ со значением интервала 2σ. В эту таблицу были включены парные образцы, подходящие для клинического анализа согласованности.

<sup>a</sup> Предполагаемая независимость между всеми образцами.

Противоречивые результаты определялись как те, которые отстоят от диагонали более чем на один квадрат (обозначены затенением). Для согласованности в колонке «Target Not Detected» (Мишень не выявлена) (TND) для теста LDT ячейки «Target Not Detected» (Мишень не выявлена) и «< LLoQ (< 2,3)» для теста **cobas® BKV** были объединены. Обоснование добавления смежных ячеек < LLoQ и TND для колонки TND заключается в том, что разница между TND и < LLoQ не имеет клинического значения и что с точки зрения аналитики они находятся в нижней части диапазона измерения, на который может повлиять случайная ошибка.

Из 43 образцов, отрицательных по ДНК BKV, которые были собраны для оценки ПСО с тестом **cobas® BKV**, все 43 образца были отрицательными по результатам теста **cobas® BKV**, таким образом, значение ПСО составило 100 % при точном 95 % ДИ от 91,8 % до 100 %.

Согласованность между тестом **cobas® BKV** и тестом сравнения BKV LDT также была оценена с использованием различных клинических пороговых значений (Табл. 30).

**Табл. 30** Обобщенные результаты оценки согласованности теста **cobas®** BКV и теста сравнения BКV LDT с помощью различных пороговых значений для всех образцов

| Пороговые значения *               | Процент согласованности<br>< порогового значения<br>95 % ДИ<br>(n/N) | Процент согласованности<br>≥ порогового значения<br>95 % ДИ<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> МЕ/мл) | 98,4 % (188/191)<br>(95,5 %, 99,5 %)                                 | 87,7 % (315/359)<br>(83,9 %, 90,7 %)                                 |
| 3,0 log <sub>10</sub> МЕ/мл        | 99,6 % (275/276)<br>(98,0 %, 99,9 %)                                 | 77,0 % (211/274)<br>(71,7 %, 81,6 %)                                 |
| 4,0 log <sub>10</sub> МЕ/мл        | 100,0 % (447/447)<br>(99,1 %, 100,0 %)                               | 67,0 % (69/103)<br>(57,4 %, 75,3 %)                                  |

Примечание. Образцы с результатами «Target Not Detected» (Мишень не выявлена) были отнесены в категорию «< порогового значения в МЕ/мл».

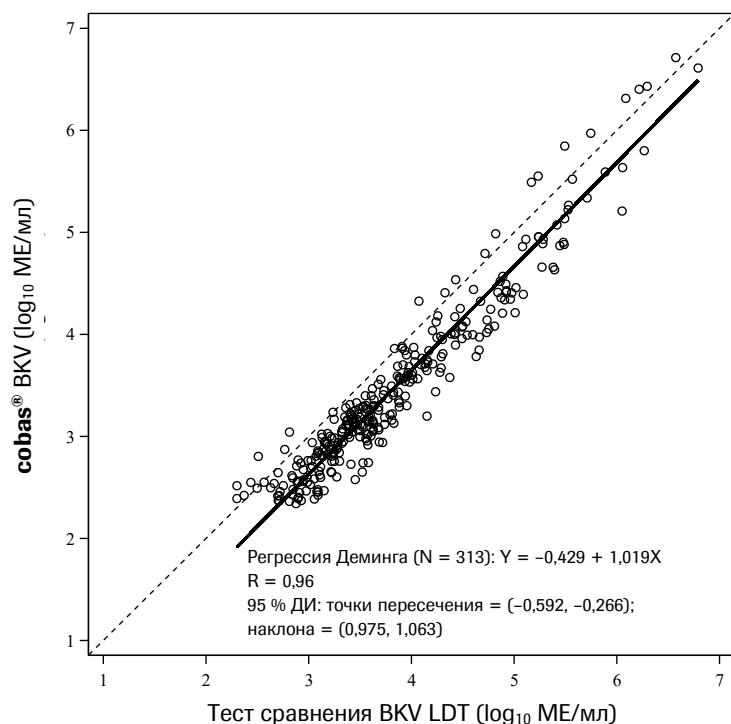
LLoQ — нижний предел количественного определения теста сравнения BКV LDT (200 МЕ/мл = 2,3 log<sub>10</sub> МЕ/мл).

95%-ный доверительный интервал (ДИ) рассчитан методом оценки, предполагающим независимость между образцами.

\* Пороговые значения 1000 МЕ/мл = 3,0 log<sub>10</sub> МЕ/мл и 10 000 МЕ/мл = 4,0 log<sub>10</sub> МЕ/мл.

Из всех образцов, протестированных с использованием **cobas®** BКV, которые были признаны положительными по BКV при использовании теста сравнения BКV, было обнаружено 313 образцов (133 неразведенных и 159 разведенных клинических образцов от 68 субъектов после трансплантации и 21 искусственный образец), подходящих для корреляционного анализа в трех лабораториях (Рис. 9).

**Рис. 9** Корреляция между тестом **cobas® BKV** и тестом сравнения BKV LDT для всех образцов: график линейной регрессии Деминга для уровней ДНК ( $\log_{10}$  МЕ/мл)



Дополнительный анализ графика расхождений для уровней ДНК показал систематическое различие между обоими тестами, которое является постоянным в пределах перекрывающегося линейного диапазона. 95 % ДИ точки пересечения рассчитанной линии на графиках расхождений составил (от  $-0,404$  до  $-0,168$ ), что находится в пределах  $\pm 0,74 \log_{10}$  МЕ/мл ( $\pm 2$ -кратное стандартное отклонение аналитической воспроизводимости теста сравнения BKV LDT). Кроме того, среднее отклонение оценивалось как  $-0,357 \log_{10}$  МЕ/мл, с использованием уравнения рассчитанной линии на графиках расхождений систематическая разница между обоими тестами составила  $-0,343 \log_{10}$  МЕ/мл и  $-0,362 \log_{10}$  МЕ/мл для образцов с уровнями ДНК 3 и 4  $\log_{10}$  МЕ/мл соответственно.

## Воспроизводимость теста **cobas® BKV** для образцов стабилизированной мочи

Воспроизводимость теста **cobas® BKV** была оценена по множеству факторов (лот набора реагентов, лаборатория, постановка и дни тестирования), которые могли повлиять на полученные результаты рутинного клинического тестирования. Оценка проводилась в 3 испытательных лабораториях с использованием 3 лотов набора реагентов панели из положительных и отрицательных образцов, в результате чего общее количество тестов на концентрацию составляло 270 (не включая контроли). Панели были подготовлены с использованием образцов мочи, стабилизированных в среде **cobas® PCR Media**, для которых был подтвержден отрицательный результат по ДНК BKV методом амплификации нуклеиновых кислот для мочи (NAT) в соответствии с протоколом и в которые внесли международный стандарт ВОЗ для BKV или ДНК культивированного вируса BKV с генотипом Ia. Два оператора в каждой лаборатории тестировали каждый лот набора реагентов на протяжении 5 дней. Каждый день выполнялось две постановки (1 тест = 1 постановка; 1 постановка = 1 панель + 3 контроля) с 3 повторами для каждого образца панели при каждой постановке. Результаты оценки приведены в Табл. 31.

**Табл. 31** Процентные доли общей дисперсии (%ОВ), стандартное отклонение (СО) общей прецизионности и логнормальный КВ (%) концентрации ДНК ВКВ ( $\log_{10}$  МЕ/мл) положительного образца панели (стабилизированная моча)

| Ожидаемая концентрация ДНК ВКВ | Наблюдаемая сред. <sup>а</sup> концентрация ДНК ВКВ | Количество тестов <sup>б</sup> | Лот %ОВ <sup>в</sup> (КВ, %) <sup>г</sup> | Лаборатория %ОВ <sup>в</sup> (КВ, %) <sup>г</sup> | День/оператор %ОВ <sup>в</sup> (КВ, %) <sup>г</sup> | Партия %ОВ <sup>в</sup> (КВ, %) <sup>г</sup> | Внутри партии %ОВ <sup>в</sup> (КВ, %) <sup>г</sup> | Общая прецизионность СО <sup>д</sup> | Общая прецизионность, КВ (%) <sup>г</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                                     |

Примечание. В таблице представлены только результаты с детектируемым уровнем ДНК. СО — стандартное отклонение; КВ — коэффициент вариации в процентах; ВКВ — вирус ВК.

<sup>а</sup> Рассчитано с использованием процедуры SAS MIXED.

<sup>б</sup> Количество валидных тестов с детектируемым уровнем ДНК.

<sup>в</sup> %ОВ = процентный вклад в общую дисперсию.

<sup>г</sup> КВ % = логнормальный процентный коэффициент вариации = кор. кв.  $(10^{[CO^2 \times \ln(10)]} - 1) \times 100$ .

<sup>д</sup> С учетом общей вариации, полученной в ходе процедуры SAS MIXED.

Тест **cobas® BКV** показал приемлемую клиническую воспроизводимость для концентраций на протяжении линейного диапазона. Кроме того, система обнаружила 100 % образцов с концентрацией  $3 \times \text{LLoQ}$ . Обе системы, **cobas® 6800** и **cobas® 8800**, имеют модульную конструкцию и продемонстрировали эквивалентность при использовании теста **cobas® BКV**. Все оцениваемые значения 95%-го доверительного интервала (ДИ) различий между 2 измерениями образцов от одного и того же субъекта находились в диапазоне  $\pm 0,20 \log_{10}$  МЕ/мл, и это указывает на то, что с помощью теста можно оценить изменения уровней ДНК ВКВ, которые считаются клинически значимыми. Система показала процент согласованности отрицательных результатов 99,26 % с ДИ 97,3–99,9 %. Из 270 валидных тестов для отрицательных образцов панели для 2 образцов (0,74 %) был обнаружен уровень ДНК при  $< \text{LLoQ}$  положительности. Дальнейшее изучение этих результатов показало, что они не были связаны с конкретным прибором/лабораторией или лотом набора реагентов. Дополнительное секвенирование ДНК подтвердило наличие ВКВ. Обнаруженные последовательности ВКВ отличались от последовательностей положительного контроля и штамма ВКВ, использованного для подготовки панели, исключая контаминацию во время подготовки панели и принимая во внимание наличие следов вирурии в одном из 25 образцов мочи в составе пулированного образца, который использовался для подготовки панели с отрицательными образцами.

## Испытание теста cobas® BKV для образцов стабилизированной мочи

Клиническое испытание теста cobas® BKV было дополнительно проведено в трех лабораториях путем измерения уровней ДНК BKV в клинических образцах мочи инфицированных и не инфицированных BKV пациентов, которые были стабилизированы в среде cobas® PCR Media, в сравнении с хорошо зарекомендовавшим себя тестом LDT (тест сравнения BKV LDT).

Из всех образцов, протестированных с использованием cobas® BKV и теста сравнения BKV, в общей сложности 308 неразведенных образцов мочи, стабилизированной в среде cobas® PCR Media, от 84 субъектов после трансплантации были признаны валидными в ходе обоих тестов и подходящими для клинического анализа согласованности (Табл. 32).

**Табл. 32** Анализ согласованности теста cobas® BKV и теста сравнения LDT по результатам определения уровня ДНК BKV ( $\log_{10}$  МЕ/мл) для всех образцов (стабилизированной мочи)

| cobas® BKV<br>( $\log_{10}$ МЕ/мл)    | Тест<br>сравнения<br>BKV LDT<br>Target Not<br>Detected | Тест<br>сравнения<br>BKV LDT<br>< LLoQ<br>(< 3,0) | Тест<br>сравнения<br>BKV LDT<br>От 3,0 до < 3,3 | Тест<br>сравнения<br>BKV LDT<br>От 3,3 до < 3,6 | Тест<br>сравнения<br>BKV LDT<br>От 3,6 до 3,9 | Тест<br>сравнения<br>BKV LDT<br>> 3,9 | Всего |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------|-------|
| Target Not<br>Detected                | 62                                                     | 6                                                 | 0                                               | 0                                               | 0                                             | 0                                     | 68    |
| < LLoQ (< 3,0)                        | 4                                                      | 22                                                | 0                                               | 0                                               | 0                                             | 1                                     | 27    |
| От 3,0 до < 3,3                       | 0                                                      | 2                                                 | 0                                               | 0                                               | 0                                             | 0                                     | 2     |
| От 3,3 до < 3,6                       | 0                                                      | 0                                                 | 6                                               | 3                                               | 0                                             | 0                                     | 9     |
| От 3,6 до 3,9                         | 0                                                      | 0                                                 | 2                                               | 11                                              | 10                                            | 0                                     | 23    |
| > 3,9                                 | 0                                                      | 0                                                 | 0                                               | 2                                               | 8                                             | 169                                   | 179   |
| Всего                                 | 66                                                     | 30                                                | 8                                               | 16                                              | 18                                            | 170                                   | 308   |
| Согласован-<br>ность<br>в колонке (%) | (66/66) 100,0 %                                        | (30/30) 100,0 %                                   | (6/8) 75,0 %                                    | (14/16) 87,5 %                                  | (18/18) 100,0 %                               | (169/170) 99,4 %                      | -     |
| (95 % Score<br>ДИ) <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 %)                      | -     |

Примечание. ДИ — доверительный интервал; LLoQ — нижний предел количественного определения теста сравнения BKV LDT (1000 МЕ/мл =  $3,0 \log_{10}$  МЕ/мл); LDT — лабораторный тест собственной разработки; BKV — вирус ВК.

Стандартное отклонение для теста сравнения BKV LDT оценивается как  $0,15 \log_{10}$  МЕ/мл (валидационное исследование теста сравнения BKV LDT).

Концентрация анализируемого вещества  $3,3 \log_{10}$  МЕ/мл соответствовала LLoQ +  $2\sigma$ ,  $3,6 \log_{10}$  МЕ/мл соответствовала LLoQ +  $4\sigma$  и  $3,9 \log_{10}$  МЕ/мл соответствовала LLoQ +  $6\sigma$  со значением интервала  $2\sigma$ .

В эту таблицу были включены парные образцы, подходящие для клинического анализа согласованности.

<sup>a</sup> Предполагаемая независимость между всеми образцами.

В ходе секвенирования ДНК на репрезентативных образцах субъектов, результаты которых последовательно покрывались уровнем ДНК более чем  $1 \log_{10}$  МЕ/мл, не было выявлено несовпадений последовательностей для каких-либо праймеров или зондов к мишеням теста **cobas® BKV**. Противоречивые результаты определялись как те, которые отстоят от диагонали более чем на один квадрат (обозначены затенением). Для согласованности в колонке «Target Not Detected» (Мишень не выявлена) (TND) для теста LDT ячейки «Target Not Detected» (Мишень не выявлена) и «< LLoQ (< 3,0)» для теста **cobas® BKV** были объединены. Обоснование добавления смежных ячеек < LLoQ и TND для колонки TND заключается в том, что разница между TND и < LLoQ не имеет клинического значения и что с точки зрения аналитики они находятся в нижней части диапазона измерения, на который может повлиять случайная ошибка. Из 66 образцов, отрицательных по ДНК BKV, которые были собраны для оценки ПСО с тестом **cobas® BKV**, для 61 были получены валидные результаты, и все из этих 61 образца были отрицательными при тестировании с использованием **cobas® BKV**, таким образом, значение ПСО составило 100 % при точном 95 % ДИ от 94,1 % до 100 %.

Согласованность между тестом **cobas® BKV** и тестом сравнения BKV LDT также была оценена с использованием различных клинических пороговых значений (Табл. 33).

**Табл. 33** Обобщенные результаты оценки согласованности теста **cobas® BKV** и теста сравнения BKV LDT с использованием различных пороговых значений для всех образцов (стабилизированной мочи)

| Пороговое значение *         | Процент согласованности<br>< порогового значения 95 % ДИ (n/N) | Процент согласованности<br>≥ порогового значения 95 % ДИ (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 $\log_{10}$ МЕ/мл) | 97,9 % (94/96)<br>(92,7 %, 99,4 %)                             | 99,5 % (211/212)<br>(97,4 %, 99,9 %)                           |
| 4,0 $\log_{10}$ МЕ/мл        | 90,9 % (130/143)<br>(85,1 %, 94,6 %)                           | 99,4 % (164/165)<br>(96,6 %, 99,9 %)                           |
| 7,0 $\log_{10}$ МЕ/мл        | 97,2 % (242/249)<br>(94,3 %, 98,6 %)                           | 94,9 % (56/59)<br>(86,1 %, 98,3 %)                             |

Примечание. Образцы с результатами «Target Not Detected» (Мишень не выявлена) были отнесены в категорию «< порогового значения в МЕ/мл».

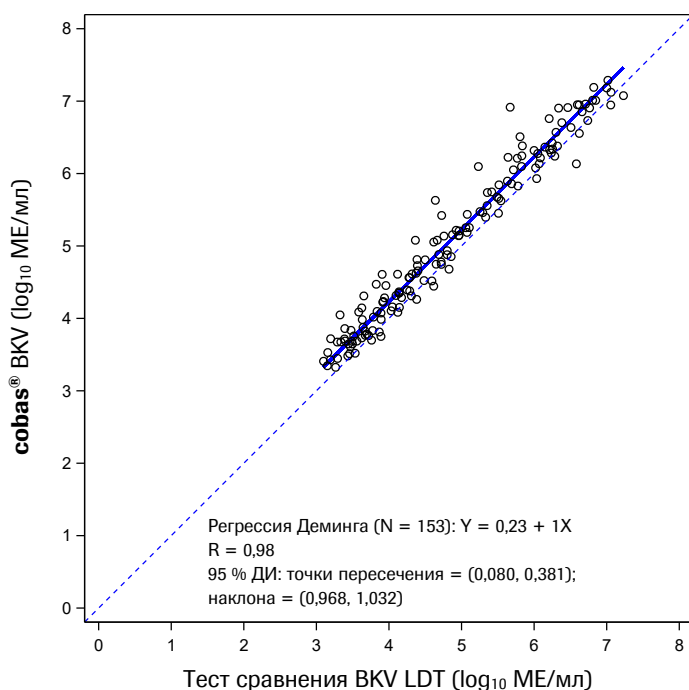
LLoQ — нижний предел количественного определения теста сравнения BKV LDT (1000 МЕ/мл = 3,0  $\log_{10}$  МЕ/мл).

95%-ный доверительный интервал (ДИ) рассчитан методом оценки, предполагающим независимость между образцами.

\* Пороговые значения 10 000 МЕ/мл = 4,0  $\log_{10}$  МЕ/мл и 10 000 000 МЕ/мл = 7,0  $\log_{10}$  МЕ/мл.

Из всех образцов, протестированных с использованием **cobas® BKV**, которые были положительными по BKV по результатам теста сравнения BKV, было обнаружено 153 неразведенных образца мочи, стабилизированной в среде **cobas® PCR Media**, от 55 субъектов после трансплантации, подходящих для корреляционного анализа в трех лабораториях (Рис. 10).

**Рис. 10** Корреляция между тестом **cobas®** BKV и тестом сравнения BKV LDT для всех образцов: график линейной регрессии Деминга для уровней ДНК ( $\log_{10}$  МЕ/мл) (образцы стабилизированной мочи)



Дополнительный анализ графика расхождений для уровней ДНК показал систематическое различие между обоими тестами, которое является постоянным в пределах перекрывающегося линейного диапазона. 95 % ДИ точки пересечения подогнанной линии на графике расхождений составил (от 0,168 до 0,488), что находится в пределах  $\pm 0,5 \log_{10}$  МЕ/мл. Кроме того, среднее отклонение оценивалось как  $0,231 \log_{10}$  МЕ/мл, с использованием уравнения рассчитанной линии на графиках расхождений систематическая разница между обоими тестами составила  $0,248 \log_{10}$  МЕ/мл и  $0,188 \log_{10}$  МЕ/мл для образцов с уровнями ДНК  $4 \log_{10}$  МЕ/мл и  $7 \log_{10}$  МЕ/мл соответственно.

## Дополнительная информация

### Основные характеристики теста

|                                       |                                                                           |                                                                          |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Тип образцов                          | Плазма с ЭДТА                                                             | Моча, стабилизированная в <b>cobas®</b> PCR Media                        |
| Минимальный необходимый объем образца | 350 мкл*                                                                  | 550 мкл*                                                                 |
| Обрабатываемый объем образца          | 200 мкл                                                                   | 400 мкл                                                                  |
| Аналитическая чувствительность        | 21,5 МЕ/мл (двусторонний 95%-ный доверительный интервал: 16,3–32,4 МЕ/мл) | 12,2 МЕ/мл (двусторонний 95%-ный доверительный интервал: 9,2–18,3 МЕ/мл) |
| Линейный диапазон                     | 21,5 МЕ/мл – 1E+08 МЕ/мл                                                  | 200 МЕ/мл – 1E+08 МЕ/мл                                                  |
| Специфичность                         | 100 %                                                                     | 100 %                                                                    |
| Обнаруживаемые субтипы                | Субтипы I (включая подгруппы Ia, Ib и Ic), II, III и IV BVK               |                                                                          |

\* Для вторичных пробирок **cobas® omni** определен мертвый объем 150 мкл. У других пробирок, используемых для тестирования, может быть иной мертвый объем, и требуемый минимальный объем может быть больше или меньше. Обратитесь к местному представителю сервисной службы Roche за дополнительной информацией.

## Условные обозначения

Приведенные ниже символы применяются для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche.

Табл. 34 Символы, применяемые для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche

|                                                                                     |                                                                                                                                                                                 |                                                                                     |                                                                                                                                      |                                                                                       |                                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Age/DOB</b>                                                                      | Возраст или дата рождения                                                                                                                                                       |    | Устройство не для тестирования по месту лечения                                                                                      | <b>QS IU/PCR</b>                                                                      | МЕ КС на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде Международных единиц (МЕ) КС на ПЦР-реакцию.     |
|    | Вспомогательное программное обеспечение                                                                                                                                         |    | Устройство не предназначено для самостоятельного тестирования                                                                        | <b>SN</b>                                                                             | Серийный номер                                                                                                                |
| <b>Assigned Range [copies/mL]</b>                                                   | Заданный диапазон (копий/мл)                                                                                                                                                    |    | Дистрибьютер<br>(Примечание. Соответствующая страна/регион могут быть указаны под символом.)                                         | <b>Site</b>                                                                           | Лаборатория                                                                                                                   |
| <b>Assigned Range [IU/mL]</b>                                                       | Заданный диапазон (МЕ/мл)                                                                                                                                                       |    | Не использовать повторно                                                                                                             | <b>Procedure Standard</b>                                                             | Стандартная процедура                                                                                                         |
| <b>EC REP</b>                                                                       | Авторизованный представитель в Европейском сообществе                                                                                                                           |    | Женский                                                                                                                              | <b>STERILE EO</b>                                                                     | Стерилизовано этиленоксидом                                                                                                   |
|    | Список штрихкодов                                                                                                                                                               |    | Только для испытаний IVD                                                                                                             |    | Хранить в темноте                                                                                                             |
| <b>LOT</b>                                                                          | Номер лота                                                                                                                                                                      | <b>GTIN</b>                                                                         | Глобальный номер товара                                                                                                              |    | Температурный диапазон                                                                                                        |
|    | Биологическая опасность                                                                                                                                                         |    | Импортер                                                                                                                             |   | Файл с описанием теста                                                                                                        |
| <b>REF</b>                                                                          | Номер по каталогу                                                                                                                                                               | <b>IVD</b>                                                                          | Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>                                                                                  |  | Этой стороной вверх                                                                                                           |
|  | СЕ маркировка соответствия требованиям ЕС — это изделие соответствует применимым требованиям для выдачи сертификата в ЕС на медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i> | <b>LLR</b>                                                                          | Нижний предел заданного диапазона                                                                                                    | <b>Procedure UltraSensitive</b>                                                       | Сверхчувствительная процедура                                                                                                 |
| <b>Collect Date</b>                                                                 | Дата сбора                                                                                                                                                                      |  | Мужской                                                                                                                              | <b>UDI</b>                                                                            | Уникальный идентификатор устройства                                                                                           |
|  | Обратитесь к инструкции                                                                                                                                                         |  | Производитель                                                                                                                        | <b>ULR</b>                                                                            | Верхний предел заданного диапазона                                                                                            |
|  | Рассчитано на <n> тестов                                                                                                                                                        | <b>CONTROL -</b>                                                                    | Отрицательный контроль                                                                                                               | <b>Urine Fill Line</b>                                                                | Линия заполнения мочой                                                                                                        |
| <b>CONTENT</b>                                                                      | Состав набора                                                                                                                                                                   |  | Нестерильно                                                                                                                          | <b>Rx Only</b>                                                                        | Для США: Осторожно! Федеральное законодательство ограничивает право продажи данного устройства терапевтом или по его рецепту. |
| <b>CONTROL</b>                                                                      | Контроль                                                                                                                                                                        |  | Ф. И. О. пациента                                                                                                                    |  | Использовать до                                                                                                               |
|  | Дата производства                                                                                                                                                               |  | Номер пациента                                                                                                                       |                                                                                       |                                                                                                                               |
|  | Устройство для тестирования по месту лечения                                                                                                                                    |  | Оторвите здесь                                                                                                                       |                                                                                       |                                                                                                                               |
|  | Устройство для самостоятельного тестирования                                                                                                                                    | <b>CONTROL +</b>                                                                    | Положительный контроль                                                                                                               |                                                                                       |                                                                                                                               |
|                                                                                     |                                                                                                                                                                                 | <b>QS copies / PCR</b>                                                              | Копии количественного стандарта (КС) на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде копий КС на ПЦР-реакцию. |                                                                                       |                                                                                                                               |

## Техническая поддержка

Для получения технической поддержки (помощи) обратитесь в местный филиал в вашем регионе:  
[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Производитель и импортёр

Табл. 35 Производитель и импортёр



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

Сделано в США



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

## Товарные знаки и патенты

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

## Авторское право

© Roche Molecular Systems, Inc., 2024.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Литература

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

## Редакция документа

| Сведения о редакции документа |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Doc Rev. 4.0<br>12/2024       | <p>Добавлена информация о системном программном обеспечении версии 2.0 для систем <b>cobas</b>® 6800/8800.</p> <p>Добавлен код NIBSC: 14/212 для Международного стандарта ВОЗ.</p> <p>Обновлены примеры отображения результатов в системах <b>cobas</b>® 6800/8800 с программным обеспечением версии 1.4.</p> <p>Удалены номера P/N расходных материалов, дается ссылка на подробную информацию о расходных материалах в Поддержке пользователя системы <b>cobas</b>® 5800 и систем <b>cobas</b>® 6800/8800.</p> <p>Удален символ «Rx Only» на первой странице.</p> <p>Обновлена страница символов.</p> <p>В случае возникновения вопросов свяжитесь с местным представителем Roche.</p> |

С кратким отчетом по безопасности и эффективности можно ознакомиться по следующей ссылке:  
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.