

## **cobas**<sup>®</sup> **BKV**

---

### **Teste quantitativo de ácidos nucleicos para utilização com os cobas<sup>®</sup> 6800/8800 Systems**

*Para diagnóstico in vitro*

<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>BKV</b>	P/N: 08688249190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>EBV/BKV Control Kit</b>	P/N: 08688214190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>Buffer Negative Control Kit</b>	P/N: 07002238190

# Índice

<b>Utilização prevista .....</b>	<b>4</b>
<b>Resumo e explicação do teste .....</b>	<b>4</b>
<b>Reagentes e materiais .....</b>	<b>7</b>
Reagentes e controlos do <b>cobas® BKV</b> .....	7
Reagentes <b>cobas omni</b> para preparação da amostra .....	10
Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes.....	11
Materiais adicionais necessários.....	12
Equipamentos e software necessários .....	13
<b>Precauções e requisitos de manuseamento.....</b>	<b>13</b>
Advertências e precauções .....	13
Manuseamento de reagentes .....	14
Boas práticas de laboratório.....	14
<b>Colheita, transporte e armazenamento de amostras.....</b>	<b>15</b>
Amostras de plasma EDTA .....	15
Amostras de urina .....	16
<b>Instruções de utilização .....</b>	<b>17</b>
Notas do procedimento.....	17
Execução do <b>cobas® BKV</b> .....	17
<b>Resultados .....</b>	<b>19</b>
Controlo de qualidade e validade dos resultados.....	19
Interpretação dos resultados.....	20
Limitações do procedimento .....	20

---

<b>Avaliação do desempenho não clínico .....</b>	<b>21</b>
Características chave de desempenho do tipo de amostra plasma EDTA .....	21
Padrão Internacional da OMS do Limite de Detecção (LoD) .....	21
Intervalo linear .....	22
Precisão – intralaboratorial .....	23
Verificação de subtipo .....	24
Especificidade .....	24
Especificidade analítica .....	24
Substâncias interferentes .....	26
Correlação de métodos .....	27
Falha global do sistema .....	27
Contaminação cruzada .....	28
Características chave de desempenho do tipo de amostra plasma urina .....	28
Padrão Internacional da OMS do Limite de Detecção (LoD) .....	28
Intervalo linear .....	30
Precisão – intralaboratorial .....	31
Verificação de subtipo .....	31
Especificidade .....	32
Especificidade analítica .....	32
Substâncias interferentes .....	33
Correlação de métodos .....	35
Contaminação cruzada .....	35
<b>Informações adicionais .....</b>	<b>36</b>
Características principais do teste .....	36
Símbolos .....	37
Fabricante e distribuidores .....	38
Marcas comerciais e patentes .....	38
Direitos de autor .....	38
Bibliografia .....	39
Revisão do documento .....	40

## Utilização prevista

O **cobas**® BKV é um teste *in vitro* de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação do ADN do vírus BK (BKV) em plasma EDTA humano e em urina estabilizada em **cobas**® PCR Media.

Em plasma EDTA, o **cobas**® BKV destina-se a ser utilizado como um auxiliar no diagnóstico e na gestão do BKV em pacientes de transplante. Em pacientes sujeitos a monitorização do BKV em plasma EDTA, as medições de ADN em série podem ser utilizadas para indicar a necessidade de possíveis alterações ao tratamento e para avaliar a resposta viral ao tratamento.

Em urina estabilizada em **cobas**® PCR Media, o **cobas**® BKV destina-se a ser utilizado como um auxiliar no diagnóstico e na gestão do BKV em pacientes de transplante.

Os resultados do **cobas**® BKV devem ser interpretados no contexto de todos os resultados clínicos e laboratoriais relevantes.

O **cobas**® BKV não se destina à utilização como teste de rastreio em sangue ou em produtos sanguíneos.

## Resumo e explicação do teste

### Fundamentos

Os recetores de transplantes têm um risco aumentado de muitas infeções virais e bacterianas que têm maior probabilidade de provocar efeitos adversos graves para a saúde na população de pacientes de transplante para a população geralmente saudável. Este risco aumentado é parcialmente atribuível à função diminuída do sistema imunitário conferido pela medicação imunossupressora que os pacientes de transplante recebem para reduzir a sua probabilidade de rejeição do excerto.<sup>1,2</sup>

O vírus BK (BKV) é um vírus de ácido desoxirribonucleico (ADN) pequeno (~5 kb), não envelopado, que faz parte da família do poliomavírus. Existem quatro subtipos de BKV principais, dos quais o subtipo I é o mais comumente detetado (80%), seguido do subtipo IV (15%).<sup>3</sup> A seroprevalência BKV é > 80% na população geral adulta e saudável.<sup>4</sup> Nas pessoas imunocompetentes, o BKV não está associado a patologias significativas. No entanto, a infeção BKV poderá causar doença clínica grave em pessoas imunocomprometidas, incluindo recetores de transplante.<sup>5</sup>

As infeções BKV manifestam-se mais comumente nos rins e no trato urinário. Após a infeção primária, o vírus permanece latente no epitélio tubular renal e epitélio ureteral e pode ser reativado em indivíduos imunocomprometidos. Os pacientes de transplante de rins têm um maior risco de complicações associadas a BKV, comparado com os receptores de outros tipos de transplante, incluindo a nefropatia por poliomavírus (PVN) e estenose ureteral. A PVN ocorre em até 10% de recetores de transplante de rins e cerca de 50% de pacientes afetados com PVN vão experienciar falha de excerto de transplante. Além disso, aproximadamente 3% de recetores de transplante de rins desenvolvem estenose ureteral associadas a BKV.<sup>5</sup> Os transplantes de células estaminais hematopoiéticas (HSCT) também experienciam complicações associadas a BKV a uma frequência mais elevada, mais comumente sob a forma de cistite hemorrágica (CH). Entre 5 a 15% dos pacientes de HSCT experienciam CH.<sup>1</sup>

As diretrizes recomendam monitorização regular para BKV em pacientes de transplante durante até 5 anos após o transplante.<sup>6</sup> Esta abordagem de monitorização pode identificar 80 a 90% dos pacientes com risco de PVN. Recomendam-se os testes de plasma de viremia BKV como parte da estratégia para identificar os pacientes com maior risco de PVN, tanto como teste de confirmação de pacientes em que se deteta a virulência do BKV, como modalidade de teste primária para o rastreio de rotina.<sup>6</sup> Atualmente não existem recomendações para a monitorização de BKV de rotina para pacientes de HSCT e recomenda-se os testes primariamente para avaliação de pacientes com hematúria e sintomas clínicos de cistite. No entanto, um nível de ADN do BKV superior a 10 000 cópias/ml está associado a um maior risco de HC em pacientes de transplante.<sup>7</sup>

Para pacientes de transplante de rim que têm um aumento persistente dos níveis de ADN do BKV no plasma, normalmente definido como uma medição acima de 10 000 cópias/ml, recomenda-se que o teste de BKV do plasma seja efetuado a cada 1 a 2 semanas até o nível de ADN voltar para um nível indetetável em duas medições consecutivas.

Muitos testes de laboratório para a quantificação do BKV não são padronizados, levando a uma elevada variabilidade interlaboratorial e interensaios.<sup>6,7</sup> Além disso, os constituintes da urina poderão causar a agregação do BKV, que poderá também ter impacto na variabilidade quantitativa.<sup>8,9</sup> A avaliação formal da reprodutibilidade e validade da carga viral do BKV é crítica ao assegurar resultados consistentes (independentemente do laboratório em que o teste foi efetuado) para a gestão clínica de pacientes com doenças associadas ao BKV.

Embora o limiar viral exato medicamente relevante ainda esteja sujeito a debate devido à variabilidade entre ensaios, o conceito de limiar crítico parece válido e foi referido em estudos de história natural, mostrando que valores de níveis de ADN de BKV mais elevados estão associados a maior risco de desenvolvimento do PVN e da CH.<sup>6,7</sup>

## Fundamentos dos testes NAT

A serologia do poliomavírus não é utilizado rotineiramente em cenários clínicos; só tem valor para determinar se um paciente foi previamente infetado com BKV e se corre risco de reativação. Os métodos de cultura de vírus têm um longo tempo de resposta, e porque são semiquantitativos, têm uma utilização limitada em pacientes imunocomprometidos em que os níveis baixos de vírus são comuns. A deteção direta de ADN do BKV através de métodos de PCR em tempo real oferecem uma vasta gama dinâmica, precisão e sensibilidade e especificidade ideais para utilização em pacientes de transplante.

## Explicação do teste

O cobas® BKV é um teste quantitativo que é executado no cobas® 6800 System e no cobas® 8800 System. O cobas® BKV permite a deteção e quantificação do ADN do BKV em plasma EDTA e em urina estabilizada em cobas® PCR Media, de pacientes infetados. O nível de ADN de BKV é quantificado em comparação com um padrão de quantificação de ADN sem BKV (DNA-QS), que é introduzido em cada amostra durante o processamento da amostra. O DNA-QS funciona também para monitorizar toda a preparação de amostras e o processo de amplificação por PCR. Adicionalmente, o teste utiliza três controlos externos: um positivo de título elevado, um positivo de título baixo e um controlo negativo.

## Princípios do procedimento

O **cobas**® BKV baseia-se na preparação de amostras totalmente automática (extração e purificação dos ácidos nucleicos) seguida de amplificação por PCR e detecção. Os **cobas**® 6800/8800 Systems são constituídos pelo módulo de abastecimento de amostras, o módulo de transferência, o módulo de processamento e o módulo analítico. A gestão automática de dados é executada pelo software **cobas**® 6800/8800, que atribui resultados a todos os testes. As diferentes possibilidades de resultados são alvo não detetado, ADN do BKV detetado < LLoQ (limite inferior de quantificação), ADN do BKV detetado > ULoQ (limite superior de quantificação) ou um valor no intervalo linear  $LLoQ < x < ULoQ$ . Os resultados podem ser examinados diretamente no ecrã do sistema ou impressos como um relatório.

O ácido nucleico de amostras de pacientes e moléculas lambda DNA-QS adicionadas são extraídas em simultâneo. Em resumo, os ácidos nucleicos virais são libertados ao adicionar proteinase e reagente de lise à amostra. Os ácidos nucleicos libertados ligam-se à superfície de sílica das partículas de vidro magnéticas adicionadas. As substâncias não ligadas e impurezas, tais como proteínas desnaturadas, detritos celulares e potenciais inibidores da PCR, são removidas com os posteriores passos com reagente de lavagem e os ácidos nucleicos purificados são eluídos das partículas de vidro com tampão de eluição a alta temperatura.

A amplificação seletiva do ácido nucleico alvo a partir da amostra é conseguida através da utilização de uma abordagem específica de duplo alvo viral a partir de regiões altamente conservadas do BKV localizado na região de antígeno-t pequeno BKV e a região VP2 do BKV. A amplificação seletiva de DNA-QS é conseguida através da utilização de primers senso e anti-senso específicos da sequência-alvo que são selecionados para que não tenham qualquer homologia com o genoma do BKV. É utilizada uma enzima de polimerase do ADN termoestável para a amplificação. As sequências-alvo e de DNA-QS são amplificadas simultaneamente utilizando um perfil de amplificação por PCR universal com passos e número de ciclos de temperatura predefinidos. A mistura principal inclui trifosfato de desoxiuridina (dUTP), em vez de trifosfato de desoxitimidina (dTTP), que é incorporado no ADN acabado de sintetizar (amplicon).<sup>10-12</sup> Qualquer amplicon contaminante de corridas de PCR anteriores é eliminado pela enzima AmpErase, que é incluída na mistura principal da PCR, quando aquecido durante o primeiro passo do ciclo térmico. No entanto, os amplicons acabados de formar não são eliminados, uma vez que a enzima AmpErase fica inativa quando exposta a temperaturas acima dos 55 °C.

A mistura principal do **cobas**® BKV contém duas sondas de detecção específicas para as sequências-alvo de BKV e uma para o DNA-QS. As sondas estão marcadas com corantes sinalizadores fluorescentes específicos do alvo que permitem a deteção simultânea de alvo de BKV e de DNA-QS em dois canais-alvo diferentes.<sup>13,14</sup> O sinal fluorescente das sondas intactas é suprimido pelo corante supressor. Durante o passo de amplificação por PCR, a hibridização da sonda com o ADN alvo específico, em cadeia simples, resulta na sua clivagem, pela atividade nuclease 5' a 3' da polimerase do ADN, originando a separação dos corantes de sinalização e de supressão e a geração de um sinal fluorescente. Com cada ciclo da PCR, são geradas quantidades crescentes de sondas clivadas, aumentando concomitantemente o sinal cumulativo do corante sinalizador. A deteção e a discriminação em tempo real dos produtos da PCR são conseguidas medindo a fluorescência dos corantes sinalizadores libertados para os alvos virais e para o DNA-QS.

## Reagentes e materiais

### Reagentes e controlos do cobas® BKV





Os materiais fornecidos para o cobas® BKV encontram-se na Tabela 1. Os materiais necessários, mas não fornecidos, encontram-se indicados desde a Tabela 2 à Tabela 4 e desde a Tabela 7 à Tabela 9.

Para obter informações sobre os riscos do produto, consulte a secção **Reagentes e materiais** e a secção **Precauções e requisitos de manuseamento**.

**Tabela 1** cobas® BKV

<b>cobas® BKV</b> Conservar entre 2 e 8 °C Cassete de 192 testes (P/N 08688249190)		
<b>Componentes do kit</b>	<b>Ingredientes dos reagentes</b>	<b>Quantidade por kit 192 testes</b>
<b>Solução de proteinase (PASE)</b>	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% de proteinase  EUH210: Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208: Contém subtilisina. Pode desencadear uma reação alérgica.	22,3 ml
<b>Padrão de quantificação de ADN (DNA QS)</b>	Tampão Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% estrutura de ADN não BKV contendo uma região de ligação de primer não BKV e uma região de sonda única (ADN não infeccioso), < 0,002% de ARN de Poli rA (sintético), < 0,1% de azida sódica	21,2 ml
<b>Tampão de Eluição (EB)</b>	Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	21,2 ml
<b>Reagente 1 da Mistura Principal (MMX-R1)</b>	Acetato de manganês, hidróxido de potássio, < 0,1% de azida sódica	7,5 ml
<b>Reagente Master Mix 2 de BKV (BKV MMX-R2)</b>	Tampão de tricina, acetato de potássio, < 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01% de primers senso e anti-senso do BKV, < 0,01% primers senso e anti-senso do padrão de quantificação, < 0,01% de sondas de oligonucleótido marcadas com fluorescência específicas do BKV e do padrão de quantificação do BKV, < 0,01% aptâmero oligonucleotídico, < 0,1% de polimerase do ADN Z05D, < 0,10% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana), < 0,1% de azida sódica	9,7 ml

Tabela 2 cobas® EBV/BKV Control Kit

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança*
<b>Controlo positivo baixo EBV/BKV (EBV/BKV L(+))C</b>	< 0,001% de ADN do BKV sintético (plasmídeo) encapsulado em proteína coberta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, ADN do BKV não detetável por métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  <p><b>ADVERTÊNCIA</b></p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea.</p> <p>P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.</p> <p>P272: A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho.</p> <p>P280: Usar luvas de proteção.</p> <p>P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.</p> <p>P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.</p> <p>P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada.</p> <p>55965-84-9 Massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1)</p>
<b>Controlo positivo alto EBV/BKV (EBV/BKV H(+))C</b>	< 0,001% de ADN do BKV sintético (plasmídeo) encapsulado em proteína coberta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, ADN do BKV não detetável por métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  <p><b>ADVERTÊNCIA</b></p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea.</p> <p>P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.</p> <p>P272: A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho.</p> <p>P280: Usar luvas de proteção.</p> <p>P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.</p> <p>P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.</p> <p>P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada.</p> <p>55965-84-9 Massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1)</p>

\* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE.

\*\* Substância perigosa.




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

Conservar entre 2 e 8 °C  
(P/N 07002238190)

<b>Componentes do kit</b>	<b>Ingredientes dos reagentes</b>	<b>Quantidade por kit</b>
<b>cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)</b>	Tampão Tris, < 0,1% de azida de sódio, EDTA, < 0,002% de ARN de Poli-rA (sintético)	16 ml (16 × 1 ml)

## Reagentes cobas omni para preparação da amostra

Tabela 4 Reagentes **cobas omni** para preparação da amostra\*

Reagentes	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança**
<b>cobas omni MGP Reagent (MGP)</b> Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997546190)	Partículas de vidro magnéticas, Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida sódica	480 testes	Não aplicável
<b>cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997511190)	Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida sódica	4 × 875 ml	Não aplicável
<b>cobas omni Lysis Reagent (LYS)</b> Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997538190)	43% (p/p) de tiocianato de guanidina***, 5% (p/v) de polidocanol***, 2% (p/v) de ditioneitol***, citrato de sódio dihidratado	4 × 875 ml	 <p><b>PERIGO</b></p> <p>H302 + H332: Nocivo por ingestão e por inalação.            H314: Provoca queimaduras graves e lesões oculares.            H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.            EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.            P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.            P273: Evitar a libertação para o ambiente.            P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.            P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.            P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.            P305 + P351 + P338 + P310: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.            593-84-0 Tiocianato de guanidina            9002-92-0 Polidocanol            3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>
<b>cobas omni Wash Reagent (WASH)</b> Conservar entre 15 e 30 °C (P/N 06997503190)	Citrato de sódio dihidratado, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo	4,2 l	Não aplicável

\* Estes reagentes não estão incluídos no kit do teste **cobas®** BKV. Consulte a lista dos materiais adicionais necessários (Tabela 7).

\*\* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE.

\*\*\* Substância perigosa.

## Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes

Os reagentes deverão ser armazenados e manuseados conforme especificado na Tabela 5 e Tabela 6.

Quando os reagentes não estiverem nos cobas® 6800/8800 Systems, armazene-os à temperatura correspondente especificada na Tabela 5.

**Tabela 5** Armazenamento de reagentes (quando o reagente não se encontra no sistema)

Reagente	Temperatura de armazenamento
cobas® BKV – 192	2–8 °C
cobas® EBV/BKV Control Kit	2–8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2–8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas omni Wash Reagent	15–30 °C

Os reagentes carregados nos cobas® 6800/8800 Systems são armazenados a temperaturas apropriadas e as datas de validade são controladas pelo sistema. Os cobas® 6800/8800 Systems apenas permitem que os reagentes sejam usados se as condições indicadas na Tabela 6 forem satisfeitas. O sistema impede a utilização de reagentes expirados, de forma automática. A Tabela 6 permite ao utilizador compreender as condições de manuseamento de reagentes impostas pelos cobas® 6800/8800 Systems.

**Tabela 6** Condições de manuseamento de reagentes impostas pelos cobas® 6800/8800 Systems

Reagente	Prazo de validade do kit	Estabilidade do kit aberto	Número de corridas para as quais este kit pode ser usado	Estabilidade a bordo do equipamento (tempo acumulado a bordo do equipamento fora do frigorífico)
cobas® BKV – 192	Data não ultrapassada	90 dias desde a primeira utilização	Máx. 40 corridas	Máx. 40 horas
cobas® EBV/BKV Control Kit	Data não ultrapassada	Não aplicável <sup>a</sup>	Não aplicável	Máx. 8 horas
cobas® Buffer Negative Control Kit	Data não ultrapassada	Não aplicável <sup>a</sup>	Não aplicável	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	Data não ultrapassada	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni MGP Reagent	Data não ultrapassada	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni Specimen Diluent	Data não ultrapassada	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni Wash Reagent	Data não ultrapassada	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável

<sup>a</sup> Reagentes de utilização única

\* O tempo é medido a partir da primeira vez que o reagente é carregado nos cobas® 6800/8800 Systems.

## Materiais adicionais necessários

**Tabela 7** Material e consumíveis para utilizar nos **cobas®** 6800/8800 Systems

Material	P/N
<b>cobas omni</b> Processing Plate	05534917001
<b>cobas omni</b> Amplification Plate	05534941001
<b>cobas omni</b> Pipette Tips	05534925001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<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
Saco de resíduos sólidos e reservatório de resíduos sólidos ou Saco de resíduos sólidos com folheto informativo e gaveta de kit	07435967001 e 07094361001 ou 08030073001 e 08387281001
Reservatório de resíduos sólidos	07094361001
Tubos secundários 13×75 <b>cobas omni</b> (opcional)	06438776001
<b>cobas®</b> PCR Media Secondary Tube Kit*	07958048190
<b>cobas®</b> PCR Media Tube Replacement Cap Kit	07958056190
<b>cobas®</b> PCR Media Disposable Tube Stand (opcional)	07958064190

\* São necessárias racks MPA 16 mm e RD5 para utilizar o **cobas®** BKV. A rack MPA de 16 mm é a rack necessária para carregar tubos secundários com **cobas®** PCR Media no **cobas®** 6800/8800 System. Contacte o representante local da Roche para uma lista detalhada de racks de amostras, racks de pontas obstruídas e suportes de racks aceites nos equipamentos.

**Tabela 8** Kits de colheita de amostras de urina utilizados com o **cobas®** BKV

Kit de colheita	P/N
<b>cobas®</b> PCR Urine Sample Kit	05170486190
<b>cobas®</b> PCR Media Kit	06466281190

Nota: o **cobas®** PCR Urine Sample Kit (kit de amostras de urina PCR) é utilizado para colher e transportar amostras de urina. Cada **cobas®** PCR Urine Sample Kit contém 100 embalagens de amostra de urina PCR **cobas®**. Cada embalagem contém 1 pipeta descartável e 1 tubo de **cobas®** PCR Media contendo 4,3 ml de **cobas®** PCR Media. O **cobas®** PCR Media é um meio de armazenamento e transporte estabilizador do ácido nucleico de amostras de urina. Para amostras de urina enviadas diretamente para o laboratório sem a utilização do **cobas®** PCR Urine Sample Kit na colheita, pode ser utilizado como alternativa o **cobas®** PCR Media kit, que contém 100 tubos de **cobas®** PCR Media (sem pipetas descartáveis), uma vez que a urina deve ser transferida no prazo de 24 horas desde a colheita.

## Equipamentos e software necessários

O software **cobas**® 6800/8800 e o pacote de análise **cobas**® BKV deverão ser instalados no(s) equipamento(s).  
O servidor IG (Instrument Gateway) será fornecido com o sistema.

**Tabela 9** Equipamentos

Equipamento	P/N
<b>cobas</b> ® 6800 System (opção móvel)	05524245001 e 06379672001
<b>cobas</b> ® 6800 System (fixo)	05524245001 e 06379664001
<b>cobas</b> ® 8800 System	05412722001
Módulo de abastecimento de amostras	06301037001

Nota: o **cobas**® BKV aceita o tubo primário utilizado para os tipos de amostras de urina colhidas em **cobas**® PCR Media. Para informações adicionais, consulte a Assistência ao Utilizador e/ou Guia do utilizador dos **cobas**® 6800/8800 Systems.

## Precauções e requisitos de manuseamento

### Advertências e precauções

À semelhança do que sucede com qualquer procedimento de teste, boas práticas de laboratório são essenciais para um desempenho adequado deste teste. Em virtude da elevada sensibilidade deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes e as misturas de amplificação livres de contaminação.

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- O **cobas**® BKV não foi avaliado para utilização como teste de rastreio da presença de BKV em sangue ou em produtos sanguíneos.
- Todas as amostras de paciente deverão ser manuseadas como se estivessem infetadas, utilizando boas práticas de laboratório, conforme descrito em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e no documento M29-A4 do CLSI.<sup>15, 16</sup> Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com experiência no manuseamento de material com risco biológico e na utilização do teste **cobas**® BKV e **cobas**® 6800/8800 Systems.
- Todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infecciosos e devem ser manipulados com as precauções universais. Se ocorrer derrame, desinfete imediatamente com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de potássio ou de sódio a 0,6% em água destilada ou desionizada (lixívia doméstica diluída a 1:10) ou siga os procedimentos apropriados do laboratório.
- O **cobas**® EBV/BKV Control Kit contém plasma derivado de sangue humano. O material de origem foi submetido a testes por métodos de PCR e apresentou vestígios aceitáveis de níveis baixos de ADN do BKV. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer uma garantia completa de que os produtos derivados do sangue humano não transmitirão agentes infecciosos.
- **Não congele sangue total ou amostras de urina armazenadas em tubos primários.**
- Para garantir o desempenho ideal do teste, utilize apenas os materiais consumíveis necessários fornecidos ou especificados.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (SDS, Safety Data Sheets) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.

- Para garantir que o teste é executado corretamente, siga rigorosamente os procedimentos e diretrizes fornecidos. Qualquer desvio dos procedimentos e diretrizes poderá afetar o desempenho ideal do teste.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se durante o manuseamento e processamento das amostras, o carryover das amostras não for controlado adequadamente.
- O **cobas® PCR Media** (do tubo de amostra primário) contém hidrocloreto de guanidina. **Não permita o contacto direto entre o hidrocloreto de guanidina e o hipoclorito de sódio (lixívia) ou outros reagentes altamente reativos, tais como ácidos ou bases. Essas misturas podem libertar gases nocivos.** Se for derramado líquido contendo hidrocloreto de guanidina, limpe-o com detergente de laboratório adequado e água. Se o líquido derramado contiver agentes potencialmente infecciosos, limpe **PRIMEIRO** a área afetada com detergente laboratorial e água e, em seguida, com hipoclorito de potássio ou de sódio a 0,6%.

## Manuseamento de reagentes

- Para evitar carryover de amostras ou controlos, manipule todos os reagentes, controlos e amostras de acordo com as boas práticas de laboratório.
- Inspeccione visualmente todas as cassetes de reagente, diluentes, reagente de lise e reagente de lavagem, antes dos mesmos serem utilizados, para se certificar de que não existem quaisquer sinais de fugas. Se existir algum indício de derrame, não utilize esse material para testes.
- O **cobas omni Lysis Reagent** contém tiocianato de guanidina, um produto químico potencialmente perigoso. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras.
- Os kits de teste **cobas® BKV**, o **cobas omni MGP Reagent** e o **cobas omni Specimen Diluent** contêm azida sódica como conservante. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras. No caso de derrame destes reagentes, dilua com água antes de passar com um pano para secar.
- Não permita que **cobas omni Lysis Reagent**, que contém tiocianato de guanidina, entre em contacto com solução de hipoclorito de sódio (lixívia). Esta mistura pode produzir um gás altamente tóxico.
- Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com amostras e reagentes, de acordo com regulamentações nacionais, estaduais e locais.

## Boas práticas de laboratório

- Não efetue pipetagem com a boca.
- Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho.
- Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes. Para evitar contaminação, as luvas têm de ser trocadas entre o manuseamento de amostras e o manuseamento de **cobas® BKV** kits, do EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C), do EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C), de **cobas® Buffer Negative Control Kits** e de reagentes **cobas omni**. Evite contaminar as luvas quando manusear amostras e controlos.
- Lave muito bem as mãos depois de manusear amostras e reagentes do kit, e depois de retirar as luvas.
- Limpe e desinfete cuidadosamente todas as superfícies de trabalho do laboratório com uma solução preparada de fresco de hipoclorito potássio ou de sódio a 0,6% em água desionizada ou destilada (diluir lixívia doméstica a 1:10). A seguir esfregue a superfície com um pano com etanol a 70%.

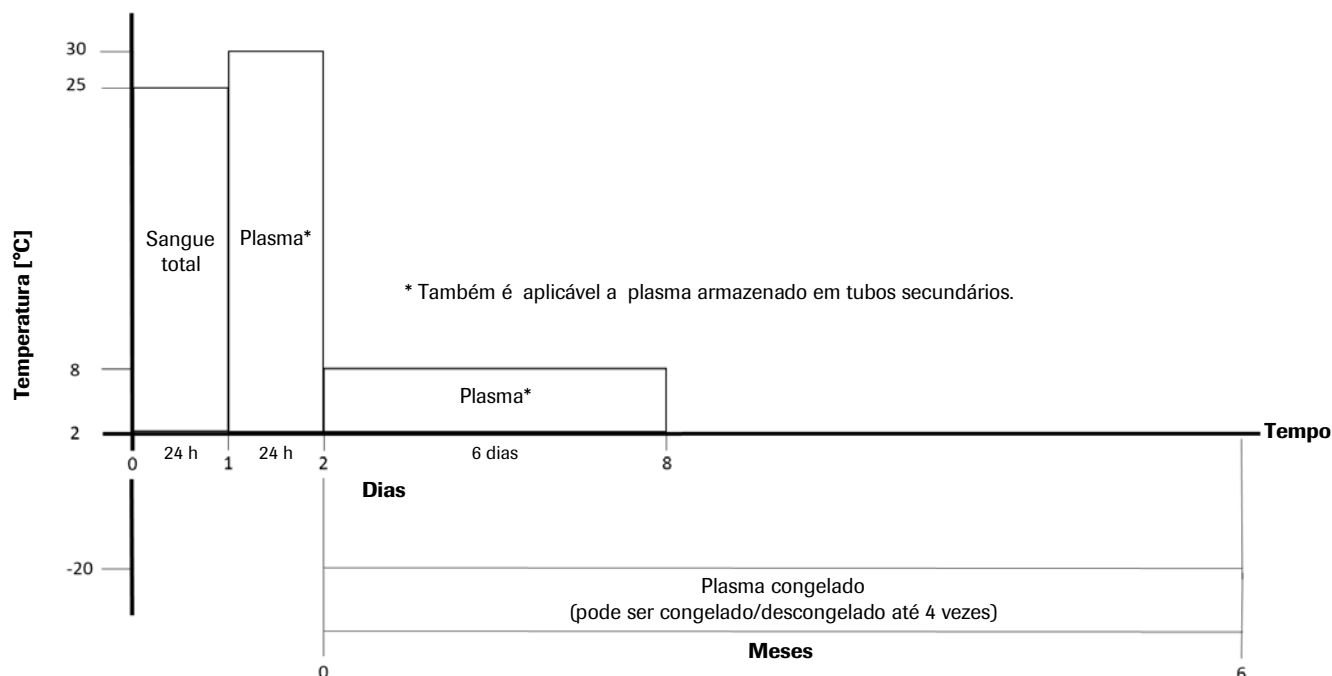
- Se ocorrerem derrames no equipamento **cobas**® 6800/8800, siga as instruções indicadas na Assistência ao Utilizador e/ou do Guia do utilizador do **cobas**® 6800/8800 Systems para limpar e descontaminar adequadamente a superfície do(s) equipamento(s).

## Colheita, transporte e armazenamento de amostras

**Nota: manuseie todas as amostras e controlos tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infecciosos.**

### Amostras de plasma EDTA

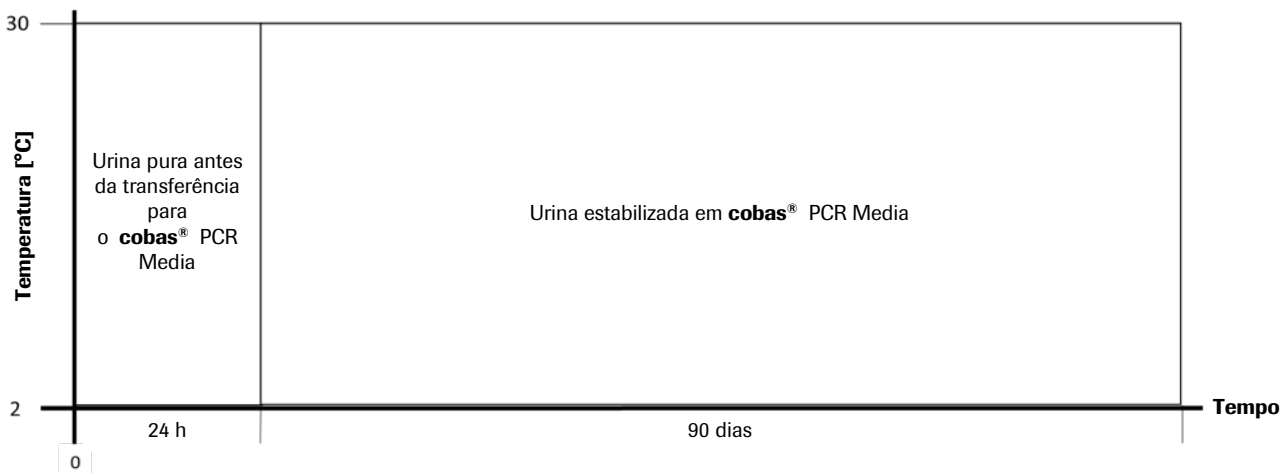
- Armazene todas as amostras às temperaturas especificadas. A estabilidade das amostras é afetada por altas temperaturas.
- Se utilizar amostras congeladas em tubos secundários, coloque as amostras à temperatura ambiente (15–30 °C) até ficarem completamente descongeladas e, em seguida, misture brevemente (por ex., com agitação forte durante 3 a 5 segundos) e centrifugue para colher todo o volume de amostra no fundo do tubo.
- O sangue total deve ser colhido em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que utilizem EDTA como anticoagulante. Siga as instruções do fabricante dos tubos de amostra. Consulte a Figura 1.
- O sangue total recolhido em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que utilizem EDTA como anticoagulante pode ser armazenado e/ou transportado durante até 24 horas entre 2 e 25 °C antes da preparação do plasma. A centrifugação deve ser desempenhada de acordo com as instruções do fabricante.
- Após a separação, as amostras de plasma podem ser guardadas durante 24 horas, entre 2 a 30 °C em tubos primários ou secundários, seguido de:
  - Armazenamento em tubos primários ou secundários durante até 6 dias, entre 2 a 8 °C.
  - Armazenamento em tubos secundários durante até 6 meses, a  $\leq -20$  °C.
- As amostras de plasma são estáveis até quatro ciclos de congelamento/descongelamento a  $\leq -20$  °C.
- Caso seja necessário expedir amostras, estas devem ser embaladas e rotuladas em conformidade com os regulamentos locais e/ou internacionais aplicáveis ao transporte de amostras e agentes etiológicos.

**Figura 1** Condições de armazenamento do plasma EDTA

## Amostras de urina

- Utilize apenas o **cobas**® PCR Urine Sample Kit para colher e estabilizar amostras de urina para o **cobas**® BKV. O **cobas**® BKV não foi validado para ser utilizado com outros tipos de meios ou dispositivos de colheita de urina. A utilização do **cobas**® BKV com outros dispositivos de colheita de urina ou outros tipos de meios poderá originar resultados falsos negativos, falsos positivos e/ou resultados inválidos.
- As amostras de urina têm de ser transferidas para o tubo de **cobas**® PCR Media (estabilizado) imediatamente. Se as amostras de urina não puderem ser transferidas imediatamente, podem ser armazenadas entre 2 °C e 30 °C durante um máximo de 24 horas. Uma vez estabilizadas as amostras de urina em **cobas**® PCR Media, as amostras poderão ser armazenadas durante um máximo de 90 dias entre 2 °C e 30 °C. Consulte a Figura 2.
- O nível de líquido das amostras de urina não testadas deverá ficar entre as duas linhas pretas da janela da etiqueta do tubo de **cobas**® PCR Media. Se o nível de líquido estiver acima ou abaixo destas linhas, a amostra não foi colhida adequadamente e não pode ser utilizada para testes.
- Se não estiver disponível volume de urina suficiente (4,3 ml) para diluição no tubo de amostra de urina **cobas**® PCR, a urina poderá ser diluída manualmente com **cobas**® PCR Media. Antes de testar com o **cobas**® BKV, pelo menos 0,5 ml de urina pura deve ser diluída manualmente em **cobas**® PCR Media (rácio 1:1).
- Para evitar contaminação cruzada de amostras processadas, devem ser utilizadas outras tampas de cor alternativa (neutra; consultar **Materiais adicionais necessários**) para tapar as amostras dos tubos de **cobas**® PCR Media, após os testes.
- Se forem necessários testes adicionais, certifique-se de que resta pelo menos 1,2 ml de amostra no tubo de **cobas**® PCR Media.
- Caso seja necessário expedir amostras, estas devem ser embaladas e rotuladas em conformidade com os regulamentos locais e/ou internacionais aplicáveis ao transporte de amostras e agentes etiológicos.



**Figura 2** Condições de armazenamento da urina

## Instruções de utilização

### Notas do procedimento

- Não utilize reagentes do cobas® BKV, do cobas® EBV/BKV Control Kit, do cobas® Buffer Negative Control Kit ou do cobas® omni depois de expirados os respectivos prazos de validade.
- Não reutilize consumíveis. Os consumíveis são para uma única utilização.
- Certifique-se de que as etiquetas de código de barras dos tubos de amostra estão visíveis através das aberturas laterais das racks de amostras MPA ou RD5. Para as especificações corretas dos códigos de barras e informações adicionais sobre o carregamento de tubos de amostra, consulte o Guia do Utilizador dos cobas® 6800/8800 Systems.
- Para a manutenção adequada dos equipamentos, consulte a Assistência ao Utilizador e/ou o Guia do Utilizador dos cobas® 6800/8800 Systems.

### Execução do cobas® BKV

O cobas® BKV pode ser executado com um volume mínimo de amostra de 350 µl para plasma EDTA e 550 µl para amostras de urina estabilizadas. O procedimento de teste do equipamento é descrito detalhadamente na Assistência ao Utilizador e/ou Guia do Utilizador dos cobas® 6800/8800 Systems. A Figura 3 a seguir resume o procedimento.

- As amostras devem estar sem tampa e ser carregadas diretamente em racks para processamento nos cobas® 6800/8800 Systems.
- Uma só corrida pode ter uma combinação de amostras (plasma, urina estabilizada).
- As amostras de plasma EDTA e de urina estabilizada devem ser processadas utilizando a seleção adequada de tipo de amostra na interface de utilizador (IU) do cobas® BKV, conforme descrito na Figura 3, passo 1.

**Figura 3** Procedimento do **cobas®** BKV

<b>1</b>	<p>Iniciar sessão no sistema Prima “Start” (Iniciar) para preparar o sistema Pedir testes</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Selecione “Plasma” para pedir amostras de plasma EDTA</li><li>• Selecionar “Urina” para pedir amostras de urina colhidas em <b>cobas®</b> PCR Media</li></ul>
<b>2</b>	<p>Reabastecer reagentes e consumíveis conforme solicitado pelo sistema</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Colocar a cassete de reagente específica do teste</li><li>• Colocar cassetes de controlo</li><li>• Colocar pontas de pipetagem</li><li>• Colocar placas de processamento</li><li>• Colocar reagente MGP</li><li>• Colocar placas de amplificação</li><li>• Reabastecer diluente de amostras</li><li>• Reabastecer reagente de lise</li><li>• Reabastecer reagente de lavagem</li></ul>
<b>3</b>	<p>Colocar amostras no sistema</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Para amostras de urina colhidas em <b>cobas®</b> PCR Media<ul style="list-style-type: none"><li>○ Retirar a tampa do tubo</li><li>○ Colocar o tubo diretamente na rack</li></ul></li><li>• Colocar a rack de amostras e as racks de pontas obstruídas no módulo de abastecimento de amostras</li><li>• Confirmar que as amostras foram aceites no módulo de transferência.</li></ul>
<b>4</b>	<p>Iniciar a execução, selecionando o botão “Iniciar manualmente” na interface do utilizador ou fazer com que se inicie automaticamente após 120 minutos ou se o batch estiver cheio</p>
<b>5</b>	<p>Examinar e exportar os resultados</p>
<b>6</b>	<p>Retirar e colocar a tampa nos tubos de amostra que cumprem os requisitos mínimos de volume se necessário para utilização futura</p> <p>Limpar o equipamento</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Descarregar cassetes de controlo vazias</li><li>• Esvaziar a gaveta de placas de amplificação</li><li>• Esvaziar recipiente de resíduos líquidos</li><li>• Esvaziar recipiente de resíduos sólidos</li></ul>

## Resultados

Os cobas® 6800/8800 Systems determinam automaticamente a concentração de ADN de BKV das amostras e dos controlos. A concentração de ADN do BKV é indicada em Unidades Internacionais por mililitro (UI/ml).

### Controlo de qualidade e validade dos resultados

- São processados com cada batch um controlo negativo [(-) C] e dois controlos positivos, um controlo positivo baixo [EBV/BKV L(+)C] e um controlo positivo alto [EBV/BKV H(+)C].
- No software cobas® 6800/8800 e/ou nos relatórios, verifique os alarmes e os resultados associados, para se certificar da validade do batch.
- O batch é válido se não ocorrerem alarmes nos três controlos, que incluem um controlo negativo e dois controlos positivos: EBV/BKV L(+)C, EBV/BKV H(+)C. O resultado do controlo negativo é exibido como (-) C e os resultados do controlo positivo baixo e do controlo positivo alto são exibidos como EBV/BKV L(+)C e EBV/BKV H(+)C.

A invalidação dos resultados é feita automaticamente pelo software cobas® 6800/8800, com base na falha de algum controlo positivo ou negativo.

### Alarmes de controlos

**Tabela 10** Alarmes de controlos negativos e positivos

Controlo negativo	Alarme	Resultado	Interpretação
(-) C	Q02 (batch de controlo falhou)	Inválido	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo negativo não é negativo.
Controlo positivo	Alarme	Resultado	Interpretação
EBV/BKV L(+)C	Q02 (batch de controlo falhou)	Inválido	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo positivo baixo não está dentro do intervalo atribuído.
EBV/BKV H(+)C	Q02 (batch de controlo falhou)	Inválido	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo positivo alto não está dentro do intervalo atribuído.

Se o batch de controlo for inválido, repita os testes de todas as amostras do batch afetado.

## Interpretação dos resultados

Para um batch válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a alarmes no software **cobas**® 6800/8800 e/ou nos relatórios. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- Um batch válido pode incluir resultados válidos e inválidos.

**Tabela 11** Interpretação dos resultados de amostras

Resultados	Interpretação
Target Not Detected	ADN do BKV não detetado. Reportar resultados como “BKV não detetado”.
< Titer Min	O título calculado está abaixo do limite inferior de quantificação (LLoQ) do ensaio. Reportar resultados como “BKV detetado, inferior a (título mín.)”. Título mín. de plasma EDTA = 21,5 UI/ml Título mín. de urina = 200 UI/ml
Titer	O título calculado está dentro do intervalo linear do ensaio – superior ou igual ao título mín. e inferior ou igual ao título máx. Reportar resultados como “(Título) de BKV detetado”.
> Titer Max <sup>a</sup>	O título calculado está acima do limite superior de quantificação (ULoQ) do ensaio. Reportar resultados como “BKV detetado, superior a (título máx.)”. Título máx. de plasma EDTA e de urina = 1,0E+08 UI/ml

<sup>a</sup> Um resultado de amostra “> Titer Max” refere-se às amostras positivas de BKV detetadas com títulos acima do limite superior de quantificação (ULoQ). Caso se pretenda um resultado quantitativo, a amostra original deverá ser diluída com plasma-EDTA humano negativo para o BKV e o teste deve ser repetido. Multiplique o resultado reportado pelo fator de diluição.

## Limitações do procedimento

- O **cobas**® BKV foi avaliado apenas para utilização em combinação com o **cobas**® EBV/BKV Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent e **cobas omni** Wash Reagent para utilização nos **cobas**® 6800/8800 Systems.
- A obtenção de resultados fiáveis está dependente de procedimentos corretos de colheita, armazenamento e manuseamento da amostra.
- Este teste foi validado apenas para utilização com plasma EDTA e urina estabilizada. Testar outros tipos de amostras com o **cobas**® BKV pode originar resultados imprecisos. As medições do nível de ADN no plasma EDTA e na urina estabilizada não são diretamente comparáveis entre si e com outros tipos de amostras.
- A quantificação de ADN do BKV pode ser afetada pelos métodos de recolha de amostras, fatores de paciente (ou seja, idade, presença de sintomas) e/ou fase de infeção.
- A degradação do ADN do BKV na urina pura pode afetar a quantificação.<sup>17</sup> Para se conseguir a estabilidade da amostra, é necessário transferir a urina para o **cobas**® PCR Media.
- Foi observada variabilidade quantitativa do ADN do BKV inerente do urina em experiências de estabilidade de amostras a diferentes pontos no tempo da amostragem (urina pura) ou em diferentes alíquotas da mesma amostra (urina pura e urina estabilizada em **cobas**® PCR Media).
- Dadas estas diferenças, os resultados do ADN do BKV na urina deverão ser interpretados com cuidado no contexto de resultados clínicos e outros resultados laboratoriais, e não deverão ser a única base nas decisões do tratamento.

- A urina poderá conter níveis elevados de ADN do BKV, com o risco de contaminação por carryover.<sup>18</sup>
- Tal como em qualquer teste molecular, as mutações dentro das regiões-alvo do **cobas**® BKV poderão afetar a ligação de primers e/ou sonda, resultando na subquantificação do vírus ou insucesso na deteção de presença do vírus.
- Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para qualificar as diferenças tecnológicas. Os utilizadores deverão seguir os seus próprios procedimentos específicos e políticas específicas.
- O **cobas**® BKV não se destina à utilização como teste de rastreio da presença de BKV em sangue ou em produtos sanguíneos.

## Avaliação do desempenho não clínico

### Características chave de desempenho do tipo de amostra plasma EDTA

#### Padrão Internacional da OMS do Limite de Deteção (LoD)

O limite de deteção do **cobas**® BKV para o Padrão Internacional da OMS foi determinado pela análise das diluições em série do 1.º Padrão Internacional da OMS de BKV da NIBSC (NIBSC 14/212), em plasma EDTA humano negativo para o BKV. Painéis de seis níveis de concentração, mais um branco, foram testados por entre três lotes de reagentes **cobas**® BKV e várias corridas, dias, operadores e equipamentos.

Os resultados de plasma EDTA estão apresentados na Tabela 12 à Tabela 14. O estudo demonstra que, com o lote menos sensível, a concentração para a qual se espera a taxa de positividade de 95% por parte da PROBIT é de 21,5 UI/ml com um intervalo de confiança de 95% de 16,3–32,4 UI/ml em plasma EDTA. A concentração mais baixa com uma taxa de positividade  $\geq$  a 95% é de 19,0 UI/ml em plasma EDTA.

**Tabela 12** Limite de deteção em plasma EDTA, lote 1

Concentração de título de entrada (ADN do BKV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	46	73,0
4,75	63	36	57,1
2,38	63	23	36,5
0	62	0	0,0
Limite de deteção por PROBIT com taxa de positividade de 95%		21,5 UI/ml	
		Intervalo de confiança de 95%: 16,3–32,4 UI/ml	

**Tabela 13** Limite de detecção em plasma EDTA, lote 2

Concentração de título de entrada (ADN do BKV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
80,0	62	62	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	61	96,8
9,5	63	48	76,2
4,75	63	34	54,0
2,38	62	23	37,1
0	62	0	0,0
Limite de detecção por PROBIT com taxa de positividade de 95%	19,7 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 15,0–29,2 UI/ml		

**Tabela 14** Limite de detecção em plasma EDTA, lote 3

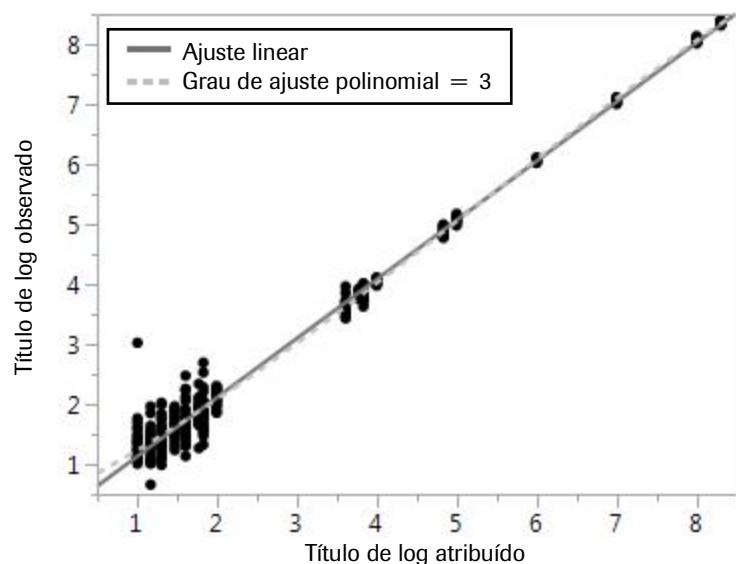
Concentração de título de entrada (ADN do BKV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	50	79,4
4,75	63	35	55,6
2,38	63	22	35,0
0	63	0	0,0
Limite de detecção por PROBIT com taxa de positividade de 95%	19,3 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 14,8–28,5 UI/ml		

## Intervalo linear

A linearidade de **cobas**® BKV foi avaliada com uma série de diluições, consistindo em 18 membros de painel com ADN do subgrupo lb de BKV, abrangendo o intervalo linear do teste. Foi utilizado um stock de ADN lambda de título elevado para preparar 11 membros de painel, abrangendo todo o intervalo linear. Foi utilizada uma amostra clínica para preparar sete membros de painel, abrangendo os níveis intermediários e baixos do intervalo linear.

Cada membro do painel foi testado em 36 réplicas em três lotes de reagentes de teste **cobas**® BKV e os resultados do estudo são apresentados na Figura 4.

O **cobas**® BKV demonstrou ser linear, a partir de  $1,01E+01$  a  $1,97E+08$  UI/ml e exibe um desvio absoluto em relação ao método de regressão não linear mais ajustado de menos de  $\pm 0,1 \log_{10}$  em plasma EDTA humano (consulte a Figura 4). Ao longo do intervalo linear, a exatidão do teste estava dentro de  $\pm 0,2 \log_{10}$ .

**Figura 4** Determinação do intervalo linear em plasma EDTA

### Precisão – intralaboratorial

A precisão do **cobas**® BKV foi determinada pela análise de diluições em série de ADN do BKV de título elevado (subgrupo lb) em plasma EDTA negativo para o BKV. Foram testados cinco níveis de diluição em 72 réplicas para cada nível por entre três lotes de reagentes do **cobas**® BKV, utilizando quatro equipamentos e dois operadores ao longo de 12 dias. Cada amostra foi analisada de forma totalmente automática seguindo todo o procedimento do teste **cobas**® BKV em **cobas**® 6800/8800 Systems. Por conseguinte, a precisão aqui reportada representa todos os aspetos do procedimento de teste. Os resultados são exibidos na Tabela 15.

O **cobas**® BKV apresentou elevada precisão para os três lotes de reagentes testados num intervalo de concentração de  $9,83E+01$  UI/ml a  $9,83E+05$  UI/ml.

**Tabela 15** Precisão intra-laboratório do **cobas**® BKV\*

Concentração nominal [UI/ml]	Concentração atribuída [UI/ml]	Plasma EDTA			
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
		DP	DP	DP	DP em pool
1,00E+06	9,83E+05	0,02	0,02	0,04	0,03
1,00E+05	9,83E+04	0,03	0,04	0,04	0,04
1,00E+04	9,83E+03	0,04	0,05	0,03	0,04
6,00E+03	5,90E+03	0,03	0,05	0,03	0,04
1,00E+02	9,83E+01	0,09	0,11	0,11	0,11

\* Os dados de titulação são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação  $\log_{10}$ . As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

## Verificação de subtipo

O desempenho do **cobas**® BKV em subtipos I de BKV (com subgrupos Ia e Ic), II, III e IV foi avaliado por:

- Verificação do limite de detecção
- Verificação do intervalo linear

### Verificação do limite de detecção dos subtipos I (com subgrupos Ia e Ic), II, III e IV

O ADN do BKV para os cinco subtipos/subgrupos diferentes (Ia, Ic, II, III e IV) foram diluídos a três níveis de concentração diferentes em plasma EDTA negativo para BKV. A determinação da taxa de positividade foi realizada com 63 réplicas para cada nível. Os testes foram efetuados com três lotes de reagentes do **cobas**® BKV, várias corridas, dias, operadores e equipamentos. Estes resultados demonstram que o **cobas**® BKV detetou ADN do BKV de cinco subtipos/subgrupos diferentes a concentrações de 21,5 UI/ml com uma taxa de positividade de  $\geq 95\%$ .

### Verificação do intervalo linear dos subtipos I (com subgrupos Ia e Ic), II, III e IV

As séries de diluição utilizadas na verificação do estudo de linearidade de subtipos/subgrupos do **cobas**® BKV consistiram em oito membros de painel abrangendo o intervalo linear do teste. Os testes foram efetuados com três lotes de reagentes **cobas**® BKV; foram testadas 12 réplicas por nível em plasma EDTA.

O intervalo linear do **cobas**® BKV foi verificado para os cinco subtipos/subgrupos (Ia, Ic, II, III e IV).

## Especificidade

A especificidade do **cobas**® BKV foi determinada por análise de amostras de plasma EDTA negativo para o BKV de dadores individuais. Foram testadas 104 amostras individuais de plasma EDTA com três lotes de reagentes do **cobas**® BKV. Todas as amostras tiveram resultado negativo relativamente a ADN do BKV. No painel de teste a especificidade do **cobas**® BKV foi 100% (intervalo de confiança inferior unilateral de 95%: 97,16%).

## Especificidade analítica

A especificidade analítica do **cobas**® BKV foi avaliada testando um painel de microrganismos a uma concentração de 1,00E+06 unidades/ml (CFU/ml, células/ml, CCU/ml, IFU/ml) para bactérias e levedura, e entre 1,00E+05 unidades/ml e 1,00E+06 unidades/ml (cópias/ml, TCID<sub>50</sub>/ml, UI/ml, células/ml) para vírus. Foram diluídos microrganismos em plasma EDTA humano negativo para ADN do BKV, assim como plasma EDTA humano contendo ADN do BKV (100 UI/ml). A Tabela 16 apresenta uma lista dos micro-organismos específicos. Todas as amostras foram testadas em réplicas de três. Nenhum dos agentes patogénicos não BKV interferiu com o desempenho do teste às concentrações testadas. Foram obtidos resultados negativos com o **cobas**® BKV em todas as amostras de microrganismos sem alvo de BKV e resultados positivos em todas as amostras de microrganismos com alvo de BKV. Além disso, o título médio de log<sub>10</sub> de uma das amostras de BKV positivo contendo organismos com potencial de reatividade cruzada estava  $\pm 0,5$  log<sub>10</sub> dentro do título médio de log<sub>10</sub> do respetivo controlo positivo.



**Tabela 16** Microrganismos testados relativamente a reatividade cruzada

<b>Vírus</b>	<b>Bactérias</b>	<b>Leveduras</b>
Adenovírus Tipo 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Citomegalovírus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Vírus de Epstein Barr	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Vírus da hepatite B	<i>Clostridium perfringens</i>	
Vírus da hepatite C	<i>Enterococcus faecalis</i>	
Vírus do herpes simples tipo 1	<i>Escherichia coli</i>	
Vírus do herpes simples tipo 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Vírus do herpes humano tipo 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	
Vírus do herpes humano tipo 7	<i>Mycobacterium avium</i>	
Vírus do herpes humano tipo 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
Vírus da imunodeficiência humana 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Vírus da imunodeficiência humana 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
Vírus do papiloma humano	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
Vírus JC	<i>Salmonella enterica</i>	
Parvovírus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
Vírus símio 40 (SV40)		
Vírus Varicella-Zoster		

## Substâncias interferentes

Níveis elevados de triglicéridos (33 g/l), de bilirrubina conjugada (0,2 g/l), de bilirrubina não conjugada (0,2 g/l), de albumina (60 g/l), de hemoglobina (2 g/l) e de ADN humano (2 mg/l) nas amostras foram testados na presença (100 UI/ml) e ausência de ADN de BKV. Foi demonstrado que as substâncias endógenas testadas não interferem com o desempenho do teste **cobas**® BKV.

Mais ainda, os fármacos listados na Tabela 17 foram testados com o triplo da  $C_{máx}$  na presença e ausência de ADN de BKV.

Foi demonstrado que todas substâncias potencialmente interferentes não interferem com o desempenho do teste. Foram obtidos resultados negativos com o **cobas**® BKV em todas as amostras de microrganismos sem alvo de BKV e resultados positivos em todas as amostras com alvo de BKV. Além disso, o título médio de  $\log_{10}$  de uma das amostras de BKV positivo contendo substâncias potencialmente interferentes estava  $\pm 0,5 \log_{10}$  dentro do título médio de  $\log_{10}$  do respetivo controlo positivo.

**Tabela 17** Fármacos testados relativamente à interferência com a quantificação de ADN do BKV pelo **cobas**® BKV

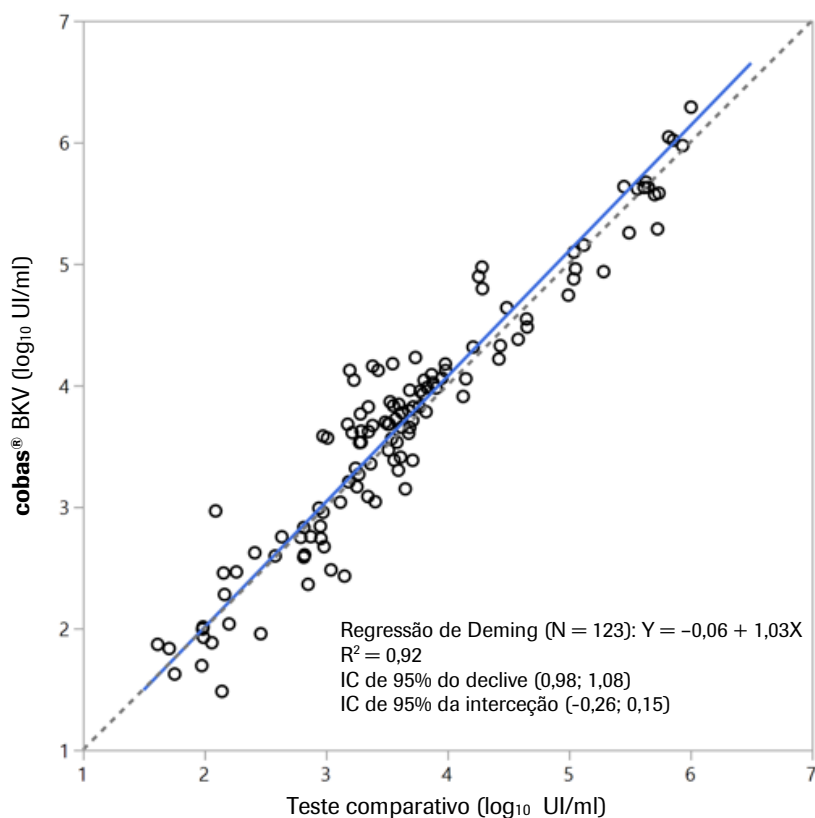
Classe do fármaco	Nome genérico do fármaco	
Antimicrobianos	Cefotetano	Sulfametoxazol
	Clavulanato de potássio	Ticarcilina dissódica
	Fluconazole	Trimetoprim
	Piperacilina	Vancomicina
	Tazobactam sódico	Micafungina
Compostos para o tratamento do vírus Herpes	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
	Aciclovir	Letermovir
Imunossupressores	Azatioprina	Prednisona
	Ciclosporina	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Micofenolato de mofetil	Ácido micofenólico

## Correlação de métodos

O desempenho do **cobas**® BKV foi avaliado com um teste comparativo, analisando amostras de plasma EDTA de pacientes infectados por BKV. Foram testadas como réplicas individuais, amostras de plasma EDTA dentro do intervalo de quantificação de ambos os testes. Foi realizada uma análise de regressão de Deming.

Os resultados da regressão de Deming estão indicados na Figura 5.

**Figura 5** Análise de regressão do **cobas**® BKV versus teste comparativo



## Falha global do sistema

Determinou-se a taxa de falha global do sistema do **cobas**® BKV testando 100 réplicas de plasma EDTA adulterado com uma amostra clínica positiva do BKV. Estas amostras foram testadas com uma concentração de 3 vezes o LoD.

Os resultados do estudo determinaram que todas as réplicas eram válidas e positivas para o alvo de BKV, originando uma taxa de falha do sistema global de 0% (intervalo de confiança de 95% unilateral superior 2,95%).

## Contaminação cruzada

A taxa de resíduos para o cobas® BKV foi determinada testando 240 réplicas de uma amostra matriz negativa para BKV e 225 réplicas de uma amostra de ADN do BKV de título elevado a aproximadamente 2,00E+07 UI/ml. No total, foram executadas cinco corridas com amostras positivas e negativas numa configuração de “tabuleiro de xadrez”.

Todas as 240 réplicas da amostra negativa eram negativas, originando uma taxa de resíduos de 0% (intervalo de confiança de 95% unilateral superior de 1,24%).

## Características chave de desempenho do tipo de amostra plasma urina

### Padrão Internacional da OMS do Limite de Detecção (LoD)

O limite de deteção do cobas® BKV para o Padrão Internacional da OMS foi determinado pela análise das diluições em série do 1.º Padrão Internacional da OMS de BKV obtido do NIBSC (NIBSC 14/212), em urina em pool, negativa para o BKV, estabilizada em cobas® PCR Media. Painéis de seis níveis de concentração, mais um branco, foram testados por entre três lotes de reagentes cobas® BKV e várias corridas, dias, operadores e equipamentos.

Os resultados para a urina em pool estabilizada em cobas® PCR Media estão indicados desde a Tabela 18 até à Tabela 20. O estudo demonstra que, com o lote menos sensível, a concentração para a qual se espera a taxa de positividade de 95% com o PROBIT é de 12,2 UI/ml com um intervalo de confiança de 95% de 9,2 a 18,3 UI/ml em urina pura. A concentração mais baixa com uma taxa de positividade  $\geq 95\%$  é de 10,0 UI/ml em urina pura.

**Tabela 18** Limite de deteção em urina, lote 1

Concentração de título de entrada* (ADN do BKV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	60	95,2
5,0	63	47	74,6
2,5	63	25	39,7
1,25	63	26	41,3
0	63	0	0,0
Limite de deteção por PROBIT com taxa de positividade de 95%		12,2 UI/ml	
		Intervalo de confiança de 95%: 9,2–18,3 UI/ml	

\* Amostras de urina testadas estabilizadas em cobas® PCR Media. Concentração do título de entrada utilizada para o cálculo baseado na urina pura.

**Tabela 19** Limite de detecção em urina, lote 2

Concentração de título de entrada* (ADN do BKV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	60	95,2
5,0	63	42	66,7
2,5	63	32	50,8
1,25	63	17	27,0
0	63	0	0,0
Limite de detecção por PROBIT com taxa de positividade de 95%	11,9 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 9,2–17,3 UI/ml		

\* Amostras de urina testadas estabilizadas em cobas® PCR Media. Concentração do título de entrada utilizada para o cálculo baseado na urina pura.

**Tabela 20** Limite de detecção em urina, lote 3

Concentração de título de entrada* (ADN do BKV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	61	96,8
5,0	63	46	73,0
2,5	63	39	61,9
1,25	63	19	30,2
0	63	0	0,0
Limite de detecção por PROBIT com taxa de positividade de 95%	10,1 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 7,8–14,7 UI/ml		

\* Amostras de urina testadas estabilizadas em cobas® PCR Media. Concentração do título de entrada utilizada para o cálculo baseado na urina pura.

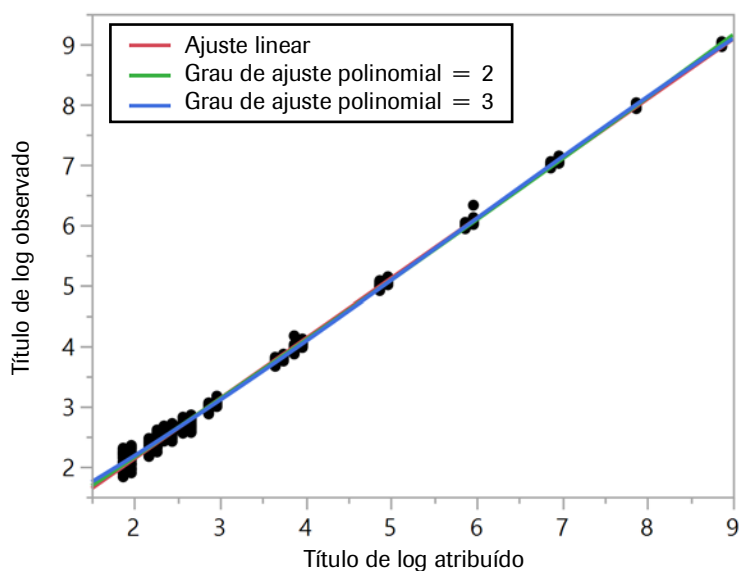
## Intervalo linear

A linearidade do cobas® BKV foi avaliada utilizando uma série de diluições constituída por 10 membros de painel a utilizar uma amostra clínica (BKV subgrupo Ib), abrangendo o intervalo linear do teste. Foi utilizado um stock de ADN lambda de título elevado para preparar 12 membros de painel, abrangendo todo o intervalo linear.

Cada membro do painel foi testado em 36 réplicas em três lotes de reagentes de teste cobas® BKV e os resultados do estudo são apresentados na Figura 6.

O cobas® BKV demonstrou ser linear desde  $7,41E+01$  UI/ml a  $7,41E+08$  UI/ml, e evidencia um desvio absoluto em relação à regressão não linear de melhor ajuste igual ou menor do que  $\pm 0,1 \log_{10}$  em urina em pool estabilizada em cobas® PCR Media (consulte a Figura 6). Ao longo do intervalo linear, a exatidão do teste estava dentro de  $\pm 0,2 \log_{10}$ .

**Figura 6** Determinação do intervalo linear em urina



## Precisão – intralaboratorial

A precisão do **cobas**® BKV foi determinada pela análise de diluições em série de ADN do BKV de título elevado (subgrupo Ib) em urina em pool negativa para o BKV estabilizada em **cobas**® PCR Media. Foram testados cinco níveis de diluição em 72 réplicas para cada nível por entre três lotes de reagentes do **cobas**® BKV, utilizando dois equipamentos e dois operadores ao longo de 12 dias. Cada amostra foi analisada de forma totalmente automática seguindo todo o procedimento do teste **cobas**® BKV em **cobas**® 6800/8800 Systems. Por conseguinte, a precisão aqui reportada representa todos os aspetos do procedimento de teste. Os resultados são exibidos na Tabela 21.

O **cobas**® BKV apresentou elevada precisão para os três lotes de reagentes testados num intervalo de concentração de 7,41E+02 UI/ml a 7,41E+05 UI/ml.

**Tabela 21** Precisão intra-laboratório do **cobas**® BKV\*

Concentração nominal [UI/ml]	Concentração atribuída [UI/ml]	Urina estabilizada em <b>cobas</b> ® PCR Media			
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
		DP	DP	DP	DP em pool
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

\* Os dados de titulação são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação  $\log_{10}$ . As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

## Verificação de subtipo

O desempenho do **cobas**® BKV em subtipos I de BKV (com subgrupos Ia e Ic), II, III e IV foi avaliado por:

- Verificação do limite de deteção
- Verificação do intervalo linear

### Verificação do limite de deteção dos subtipos I (com subgrupos Ia e Ic), II, III e IV

O ADN do BKV dos cinco subtipos/subgrupos diferentes (Ia, Ic, II, III e IV) foram diluídos a três níveis de concentração diferentes em urina em pool negativa para o BKV estabilizada em **cobas**® PCR Media. A determinação da taxa de positividade foi realizada com 63 réplicas para cada nível. Os testes foram efetuados com três lotes de reagentes do **cobas**® BKV, várias corridas, dias, operadores e equipamentos. Estes resultados demonstram que o **cobas**® BKV detetou ADN do BKV de cinco subtipos/subgrupos diferentes a concentrações de 12,2 UI/ml com uma taxa de positividade de  $\geq 95\%$ .

## Verificação do intervalo linear dos subtipos I (com subgrupos Ia e Ic), II, III e IV

As séries de diluição utilizadas na verificação do estudo de linearidade de subtipos/subgrupos do **cobas**® BKV consistiram em oito membros de painel abrangendo o intervalo linear do teste. Os testes foram efetuados com três lotes de reagentes **cobas**® BKV e foram testadas 12 réplicas por nível em urina estabilizada em **cobas**® PCR Media.

O intervalo linear do **cobas**® BKV foi verificado para os cinco subtipos/subgrupos (Ia, Ic, II, III e IV).

## Especificidade

A especificidade do **cobas**® BKV foi determinada analisando amostras de urina negativa para o BKV estabilizada em **cobas**® PCR Media, de dadores individuais. Foram testadas 100 amostras individuais de urina com três lotes de reagentes do **cobas**® BKV. Todas as amostras tiveram resultado negativo relativamente a ADN do BKV. No painel de teste a especificidade do **cobas**® BKV foi 100% (intervalo de confiança inferior unilateral de 95%: 97,05%).

## Especificidade analítica

A especificidade analítica do **cobas**® BKV foi avaliada testando um painel de microrganismos a uma concentração entre 1,00E+06 unidades/ml e 2,00E+06 unidades/ml (CFU/ml, células/ml, CCU/ml, IFU/ml) para bactérias e levedura, e a 1,00E+05 unidades/ml (cópias/ml, TCID<sub>50</sub>/ml, UI/ml, células/ml) para vírus. Foram diluídos microrganismos em urina negativa para ADN do BKV, assim como em urina contendo ADN do BKV (600 UI/ml). A Tabela 22 apresenta uma lista dos micro-organismos específicos. Todas as amostras foram testadas em réplicas de três. Nenhum dos agentes patogénicos não BKV interferiu com o desempenho do teste às concentrações testadas. Foram obtidos resultados negativos com o **cobas**® BKV em todas as amostras de microrganismos sem alvo de BKV e resultados positivos em todas as amostras de microrganismos com alvo de BKV. Além disso, o título médio de log<sub>10</sub> de uma das amostras de BKV positivo contendo organismos com potencial de reatividade cruzada estava  $\pm 0,5 \log_{10}$  dentro do título médio de log<sub>10</sub> do respetivo controlo positivo.



**Tabela 22** Microrganismos testados relativamente a reatividade cruzada

<b>Vírus</b>	<b>Bactérias</b>	<b>Bactérias</b>	<b>Leveduras</b>
<i>Vírus do herpes simples 2</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Vírus do papiloma humano 16</i>	<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>		

## Substâncias interferentes

Foram testados níveis elevados de albumina (0,5% p/v), bilirrubina conjugada (1% p/v), glicose (1% p/v), células mono-nucleares de sangue periférico (1,00E+06 células/ml), muco (na presença de 1 zaragatoa de muco por 4,3 ml de amostra), pH ácido (pH 4), pH alcalino (pH 9), sémen (1 zaragatoa mergulhada em sémen por 4,3 ml de amostra), sódio (300 mEq/l) e sangue total (10% v/v) em amostras, na presença (600 UI/ml) e na ausência de ADN do BKV. Foi demonstrado que as substâncias endógenas testadas não interferem com o desempenho do teste **cobas**® BKV.

Além disso, os fármacos listados na Tabela 23 foram testados na presença e na ausência de ADN do BKV.

Foi demonstrado que todas substâncias potencialmente interferentes, exceto o pó de talco, não interferem com o desempenho do teste. O pó de talco a  $\leq 0,05\%$  não mostrou interferência com o **cobas**® BKV. Foram obtidos resultados negativos com o **cobas**® BKV em todas as amostras de microrganismos sem alvo de BKV e resultados positivos em todas as amostras com alvo de BKV. Além disso, o título médio de  $\log_{10}$  de uma das amostras de BKV positivo contendo substâncias potencialmente interferentes estava  $\pm 0,5 \log_{10}$  dentro do título médio de  $\log_{10}$  do respetivo controlo positivo.

**Tabela 23** Fármacos testados relativamente à interferência com a quantificação de ADN do BKV pelo cobas® BKV

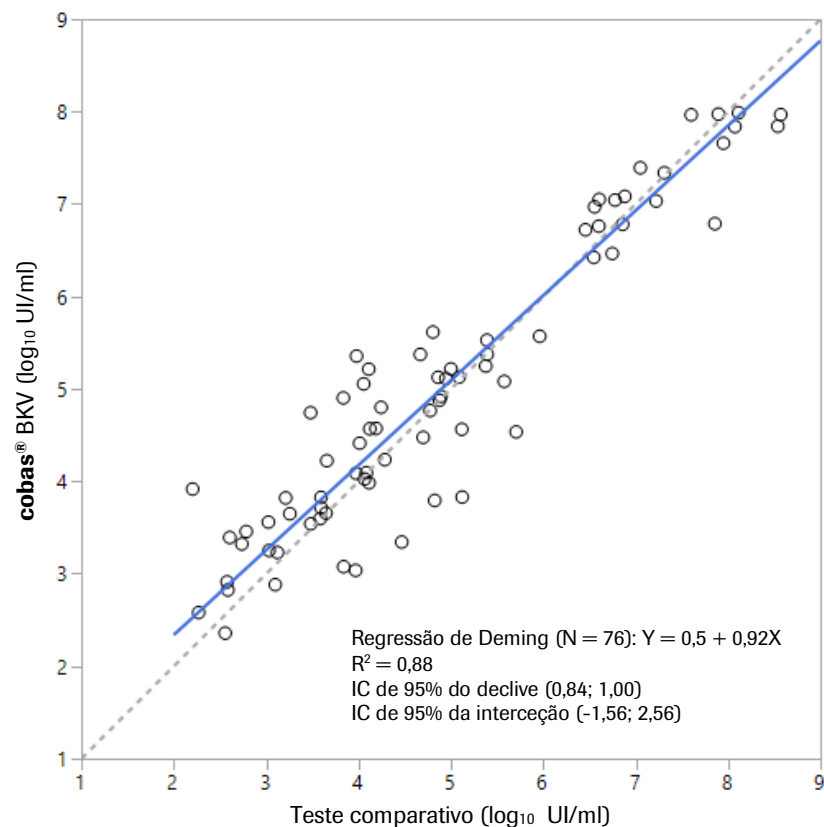
<b>Classe do fármaco</b>	<b>Princípio ativo</b>	<b>Concentração</b>	<b>Nome genérico do fármaco</b>
Antimicrobianos	Clotrimazol	100 µg/ml	Gyne-Lotrimin 7
	Metronidazol	701 µmol/l	Arilin Rapid Supositórios vaginais Creme Vagi Metro Nidazea Gel
Hormona esteroide estrogénica	Estradiol	4,41 nmol/l	Estrace
Analgésicos	Cloridrato de Fenazopiridina	200 µg/ml	Azo Standard
	Acetaminofeno	1324 µmol/l	Acetaminofeno
Lubrificante	Propilenoglicol	1000 µg/ml	K-Y UltraGel
Fármaco anti-inflamatório não esteroideal	Ácido acetilsalicílico	3,62 mmol/l	Ácido acetilsalicílico
	Naproxeno	2170 µmol/l	Naproxeno
	Ibuprofeno	2425 µmol/l	Ibuprofeno
Não aplicável	Talco	0,05% (p/v)	Pó de talco

## Correlação de métodos

O desempenho do **cobas**® BKV foi avaliado em relação a um teste comparativo, analisando amostras de urina de pacientes infectados por BKV. Foram testadas como réplicas individuais, amostras de urina dentro do intervalo de quantificação de ambos os testes. Foi realizada uma análise de regressão de Deming.

Os resultados da regressão de Deming estão indicados na Figura 7.

**Figura 7** Análise de regressão do **cobas**® BKV versus teste comparativo



## Contaminação cruzada

A taxa de resíduos para o **cobas**® BKV foi determinada testando 240 réplicas de uma amostra matriz negativa para BKV e 225 réplicas de uma amostra de ADN do BKV de título elevado a aproximadamente  $1,00E+09$  UI/ml. No total, foram executadas cinco corridas com amostras positivas e negativas numa configuração de “tabuleiro de xadrez”.

Todas as 240 réplicas da amostra negativa eram negativas, originando uma taxa de resíduos de 0,0% (intervalo de confiança de 95% unilateral superior de 1,24%).

## Informações adicionais

### Características principais do teste
























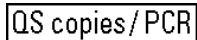









<b>Tipo de amostra</b>	Plasma EDTA	Urina estabilizada em <b>cobas</b> ® PCR Media
<b>Quantidade de amostra mínima necessária</b>	350 µl*	550 µl*
<b>Volume de processamento de amostras</b>	200 µl	400 µl
<b>Sensibilidade analítica</b>	21,5 UI/ml (intervalo de confiança bilateral de 95%: 16,3–32,4 UI/ml)	12,2 UI/ml (intervalo de confiança bilateral de 95%: 9,2–18,3 UI/ml)
<b>Intervalo linear</b>	21,5 UI/ml a 1E+08 UI/ml	200 UI/ml a 1E+08 UI/ml
<b>Especificidade</b>	100%	100%
<b>Subtipos detetados</b>	Subtipos I do BKV (com subgrupos Ia, Ib e Ic), II, III e IV	

\* Volume morto de 150 µl identificado para os tubos secundários **cobas omni**. Outros tubos utilizados para os testes podem ter um volume morto e exigem mais ou menos volume mínimo.

## Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche.

**Tabela 24** Símbolos utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

	Software auxiliar		Limite inferior do intervalo atribuído		Controlo negativo
	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Limite superior do intervalo atribuído		Controlo positivo
	Folha de dados de códigos de barras		Armazenar no escuro		Controlo
	Código do batch		Conteúdo suficiente para <n> testes		Intervalo atribuído (cópias/ml)
	Risco biológico		Limite de temperatura		Intervalo atribuído (UI/ml)
	Referência de catálogo		Ficheiro de definição de teste		Procedimento padrão
	Consulte as instruções de utilização		Fabricante		Procedimento ultrasensível
	Conteúdo do kit		Prazo de validade		Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.
	Distribuído por		Global Trade Item Number		UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.
	Apenas para avaliação do desempenho IVD		Número de série		Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79/CE para dispositivos médicos de diagnóstico <i>in vitro</i> .
Rx Only	Apenas nos EUA: a lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a ou a pedido de um profissional licenciado.		Data do fabrico		
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Não volte a utilizar		

Apoyo Técnico a Clientes EUA 1-800-526-1247

## Fabricante e distribuidores

**Tabela 25** Fabricante e distribuidores



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



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics  
9115 Hague Road  
Indianapolis, IN 46250-0457 USA  
(For Technical Assistance call the  
Roche Response Center  
toll-free: 1-800-526-1247)

## Marcas comerciais e patentes

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

## Direitos de autor

©2020 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Bibliografia

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. Nিকেleit 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.

## Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 1.0 07/2019	Primeira publicação.
Doc Rev. 2.0 04/2020	Atualizado para conter informações sobre urina. Secções atualizadas ou adicionadas para incluir conteúdos específicos da urina. Armazenamento de tubos secundários (a $\leq -20$ °C) alargado para até 6 meses. Se tiver quaisquer questões, contacte o representante local da Roche.