

cobas[®] BKV

Kvantitatívny test nukleových kyselín určený na použitie v systémoch cobas[®] 5800/6800/8800

Určené na diagnostické použitie *in vitro*

cobas[®] BKV

P/N: 09040960190

Určené na použitie v systéme cobas[®] 5800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Určené na použitie v systémoch cobas[®] 6800/8800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 alebo
P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 alebo
P/N: 09051953190

Obsah

Účel použitia	5
Súhrn a vysvetlenie testu	5
Činidlá a materiály	8
cobas® BKV činidlá a kontroly.....	8
Činidlá cobas® omni na prípravu vzoriek.....	11
Požiadavky na skladovanie činidiel a manipuláciu s nimi.....	12
Požiadavky na manipuláciu s činidlami pre systém cobas® 5800	13
Požiadavky na manipuláciu s činidlami pre systémy cobas® 6800/8800.....	13
Ďalšie vyžadované materiály pre systém cobas® 5800	14
Ďalšie vyžadované materiály pre systémy cobas® 6800/8800	15
Vyžadované prístrojové vybavenie a softvér.....	16
Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu	17
Výstrahy a preventívne opatrenia	17
Manipulácia s činidlami	18
Vhodné laboratórne postupy	18
Odber, preprava a skladovanie vzoriek.....	19
Vzorky EDTA plazmy.....	19
Vzorky moču.....	20
Návod na použitie	21
Procedurálne poznámky.....	21
Spustenie testu cobas® BKV v systéme cobas® 5800	21
Spustenie testu cobas® BKV v systémoch cobas® 6800/8800	23
Výsledky	24
Kontrola kvality a platnosť výsledkov v systéme cobas® 5800	24
Výsledky kontrolných vzoriek v systéme cobas® 5800.....	24

Kontrola kvality a platnosť výsledkov v systémoch cobas ® 6800/8800.....	25
Kontrolné príznaky v systémoch cobas ® 6800/8800	25
Interpretácia výsledkov.....	26
Interpretácia výsledkov v systéme cobas ® 5800	26
Interpretácia výsledkov v systémoch cobas ® 6800/8800.....	27
Procedurálne obmedzenia.....	27
Hodnotenie neklinickej účinnosti.....	28
Kľúčové ukazovatele účinnosti pre vzorky typu EDTA plazma použité v systémoch cobas ® 6800/8800.....	28
Detekčný limit (LoD), medzinárodný štandard WHO	28
Lineárny rozsah.....	29
Presnosť – v laboratóriu	30
Overenie podtypu	31
Špecifickosť	31
Analytická špecifickosť.....	31
Analytická špecifickosť – interferujúce látky	33
Korelácia metódy	33
Zlyhanie celého systému	34
Křížová kontaminácia	34
Kľúčové ukazovatele účinnosti pre vzorky typu moč použité v systémoch cobas ® 6800/8800.....	35
Detekčný limit (LoD), medzinárodný štandard WHO	35
Lineárny rozsah.....	36
Presnosť – v laboratóriu	37
Overenie podtypu	38
Špecifickosť	38
Analytická špecifickosť.....	38
Analytická špecifickosť – interferujúce látky	39
Korelácia metódy	41
Křížová kontaminácia	41

Hodnotenie klinickej účinnosti použité v systémoch cobas® 6800/8800..... 42

Reprodukovateľnosť cobas® BKV pre typ vzorky EDTA plazma..... 42

Účinnosť cobas® BKV pre typ vzorky EDTA plazma 43

Reprodukovateľnosť cobas® BKV pre typ vzorky stabilizovaný moč 45

Účinnosť cobas® BKV pre typ vzorky stabilizovaný moč..... 46

Ekvivalencia systémov/porovnanie systémov 48

Ďalšie informácie 49

Kľúčové funkcie testu..... 49

Symboly 50

Technická podpora 51

Výrobca a dovozca 51

Ochranné známky a patenty 51

Autorské práva..... 51

Referenčné materiály 52

Revízia dokumentu 53

Účel použitia

cobas® BKV je *in vitro* amplifikačný test nukleových kyselín na kvantifikáciu DNA BK vírusu (BKV) v ľudskej EDTA plazme a moči stabilizovanom v médiu **cobas® PCR Media**.

V EDTA plazme je test **cobas® BKV** určený na použitie ako pomoc pri diagnostike a manažmente BKV u pacientov s transplantátom. U pacientov, ktorí absolvujú monitorovanie BKV v EDTA plazme, sa môžu použiť sériové merania DNA, aby sa zistila potreba potenciálnej zmeny v liečbe a aby sa ohodnotila vírusová reakcia na liečbu.

V moči stabilizovanom v médiu **cobas® PCR Media** je test **cobas® BKV** určený na použitie ako pomoc pri diagnostike a manažmente BKV u pacientov s transplantátom.

Výsledky testu **cobas® BKV** sa musia interpretovať v rámci kontextu všetkých príslušných klinických testov a laboratórnych nálezov.

Test **cobas® BKV** nie je určený na testovanie v krvi ani krvných produktoch.

Súhrn a vysvetlenie testu

Základné informácie

Príjemcovia transplantátov podstupujú zvýšené riziko mnohých vírusových a bakteriálnych infekcií, u ktorých je väčšia pravdepodobnosť, že budú mať silné nepriaznivé účinky u populácie pacientov s transplantátom v porovnaní s bežnou zdravou populáciou. Toto zvýšené riziko sa dá čiastočne pripísať oslabenej funkčnosti imunitného systému spôsobenej imunosupresívnymi liekmi, ktoré dostávajú pacienti s transplantátom, aby sa znížila pravdepodobnosť odmietnutia transplantátu.^{1,2}

Vírus BK (BKV) je malý (~5 kb) neobalený vírus s deoxyribonukleovou kyselinou (DNA), ktorý patrí do skupiny polyomavírusov. Existujú štyri hlavné podtypy BKV, z ktorých je podtyp I najbežnejšie detegovaný (80 %); za ním nasleduje podtyp IV (15 %).³ Séroprevalencia BKV v bežnej zdravej dospeléj populácii dosahuje hodnotu > 80 %.⁴

U imunokompetentných osôb sa BKV nespája s významnou patológiou. Avšak BKV infekcia môže spôsobiť nebezpečné klinické choroby u imunokompromitovaných osôb, a to vrátane príjemcov transplantátov.⁵

Infekcie BKV sa najčastejšie prejavujú v obličkách a močových cestách. Po primárnej infekcii vírus zostáva v latentnej podobe v renálnom tubulárnom epiteli a môže sa opätovne aktivovať u imunokompromitovaných jednotlivcov. Pacienti s transplantovanými obličkami majú väčšie riziko získania komplikácií pridružených k BKV v porovnaní s príjemcami iných transplantovaných orgánov, vrátane nefropatie spojenej s vírusom polyómu (PVN) a stenózou maternice. Do 10 % príjemcov transplantovaných obličiek postihne PVN a okolo 50 % pacientov postihnutých PVN trpí zlyhaním transplantátu. Navyše, približne 3 % príjemcov transplantátu obličiek získa stenózu maternice spojenú s BKV.⁵ Transplantácie hematopoietických kmeňových buniek (HSCT) takisto bývajú častejšie spojené s komplikáciami súvisiacimi s BKV, najbežnejšie vo forme hemoragickej cystitídy (HC). Od 5 do 15 % HSCT pacientov trpí HC.¹

Smernice odporúčajú pravidelné monitorovanie BKV u pacientov s transplantovanou obličkou do 5 rokov po transplantácii.⁶ Tento monitorovací prístup dokáže identifikovať 80 až 90 % pacientov, ktorých ohrozuje PVN. Testovanie plazmy na virémiu BKV sa odporúča ako súčasť stratégie na identifikáciu pacientov so zvýšeným rizikom PVN, buď ako potvrdzujúci test pre pacientov, u ktorých sa zistí virúria BKV, alebo ako primárny testovací spôsob pre rutinný skrining.⁶ V súčasnosti neexistujú žiadne odporúčania na rutinné monitorovanie BKV u pacientov s HSCT a testovanie sa odporúča

predovšetkým na vyhodnotenie pacientov s hematúriou a klinickými symptómami cystitídy. Avšak úroveň BKV DNA väčšia ako 10 000 kópií/ml sa spája s vyšším rizikom HC u pacientov s transplantátom.⁷

U pacientov s transplantovanou obličkou, ktorí majú konštantne zvýšenú úroveň BKV DNA v plazme, bežne definovanú ako meranie nad 10 000 kópií/ml, sa testovanie BKV v plazme odporúča vykonať každé 1 – 2 týždne dovtedy, kým sa úroveň DNA nevráti na nezistiteľnú úroveň v rámci dvoch po sebe nasledujúcich meraní.

Mnohé laboratórne testy na kvantifikáciu BKV nie sú štandardizované, čo vedie k vysokej variabilite medzi laboratóriami a medzi testami.^{6,7} Okrem toho môžu zložky moču spôsobiť agregáciu BKV, čo môže tiež ovplyvniť kvantitatívnu variabilitu.^{8,9} Formálne hodnotenie reprodukovateľnosti a platnosti úrovni BKV DNA je rozhodujúce na zabezpečenie konzistentných výsledkov (bez ohľadu na to, v ktorom laboratóriu sa test vykoná) pre klinický manažment pacientov s chorobami súvisiacimi s BKV.

Zatiaľ čo presná, zdravotnícky relevantná hranica hladiny vírusov je stále predmetom diskusie v dôsledku variability medzi jednotlivými analýzami, koncept kritickej hranice sa javí ako platný a uvádza sa v štúdiách prírodnej histórie, a ukazuje, že vyššie úrovne BKV DNA sú spojené so zvýšeným rizikom rozvoja PVN a HC.^{6,7}

Odôvodnenie použitia NAT testovania

Sérológia vírusu polyómu sa bežne nepoužíva v klinickom prostredí. Jej hodnota spočíva len v určení, či už bol pacient infikovaný BKV a podstupuje riziko opätovnej aktivácie. Metódy kultivácie vírusov sú zdĺhavé, pretože sú semi-kvantitatívne, majú malé využitie u imunokompromitovaných pacientov, kde sú bežné nízke hladiny vírusu. Priame zachytenie BKV DNA pomocou metód PCR potenciálne ponúka širokú dynamickú škálu, presnosť a optimálnu citlivosť a špecifickosť pre použitie u transplantovaných pacientov s transplantátom.

Vysvetlenie testu

cobas® BKV je kvantitatívny test, ktorý sa aplikuje pomocou systémov **cobas®** 5800/6800/8800. Test **cobas®** BKV umožňuje zaznamenanie a stanovenie množstva BKV DNA v EDTA plazme a moči stabilizovanom v médiu **cobas®** PCR Media u infikovaných pacientov. Úroveň BKV DNA je kvantifikovaná oproti kvantifikačnému štandardu bez BKV DNA (DNA-QS), ktorý sa aplikuje do každej vzorky počas jej spracovania. DNA-QS slúži takisto na monitorovanie celkovej prípravy vzorky a procesu amplifikácie procesu PCR. Okrem toho test používa tri externé kontroly: vysokú titer pozitívnu, nízku titer pozitívnu a negatívnu kontrolu. Vysoko pozitívna a nízko pozitívna externá kontrola sa vyrába riedením zo zásobného materiálu s titrom nadväzujúcim na medzinárodný štandard BKV WHO. Každá šarža amplifikačnej/detekčnej súpravy je kalibrovaná podľa medzinárodného štandardu BKV WHO.

Princípy procedúry

Test **cobas®** BKV je založený na plne automatizovanej príprave vzoriek (extrakcia nukleových kyselín a vyčistenie), po ktorých nasleduje amplifikácia PCR a detekcia. Systém **cobas®** 5800 je navrhnutý ako jeden integrovaný prístroj. Systémy **cobas®** 6800/8800 pozostávajú z modulu na podávanie vzoriek, prenosového modulu, spracovacieho modulu a analytického modulu. Automatizovaný manažment údajov sa vykonáva pomocou softvéru **cobas®** 5800 alebo **cobas®** 6800/8800, ktorý priradzuje výsledky testovania všetkých testov buď ako cieľ nezistený, zistený BKV DNA < LLoQ (dolný limit kvantifikácie), zistený BKV DNA > ULoQ (horný limit kvantifikácie), alebo hodnota v lineárnom rozsahu $LLoQ < x < ULoQ$. Výsledky sa dajú sledovať priamo na systémovej obrazovke, môžu byť exportované alebo vytlačené ako správa.

Nukleové kyseliny zo vzoriek pacientov a pridané DNA-QS lambda molekuly sa extrahujú simultánne. V skratke, vírusová nukleová kyselina sa uvoľňuje pridaním proteínázy a dezintegračného činidla do vzorky. Uvoľnená nukleová kyselina sa viaže na silikátový povrch pridaných magnetických guľôčok. Neviazané látky a nečistoty ako je denaturovaný proteín, bunkový odpad a potenciálne PCR inhibítory sa odstraňujú následnými krokmi premývacieho činidla a vyčistená nukleová kyselina sa vymýva zo sklenených guľôčok pomocou elučného pufru pri vysokej teplote.

Selektívna amplifikácia cieľovej nukleovej kyseliny zo vzorky sa dosahuje pomocou špecifického prístupu k dvom cieľom v rámci DNA vírusu vo vysoko konzervovaných oblastiach BKV umiestnených v malej t-antigénovej oblasti BKV a BKV VP2 oblasti. Selektívna amplifikácia DNA-QS sa dosahuje pomocou sekvenčne špecifických priamych a reverzných primerov, ktoré sú navrhnuté, aby neboli homologické s genómom BKV. Na amplifikáciu DNA sa používa termostabilný enzým polymerázy. Cieľové sekvencie DNA-QS sa amplifikujú simultánne s použitím univerzálneho PCR amplifikačného profilu s krokmi vopred určenej teploty a počtom cyklov. Hlavná zmes zahŕňa deoxyuridín trifosfát (dUTP) namiesto deoxytimidín trifosfátu (dTTP), ktorý je zapracovaný do čerstvo syntetizovanej DNA (amplikón).¹⁰⁻¹² Každý kontaminujúci amplikón z predchádzajúcich cyklov PCR sa po zahriatí počas prvého kroku tepelného cyklu eliminuje enzýmom AmpErase, ktorý je súčasťou zmesi PCR. Avšak novosformovaný amplikón sa neeliminuje, nakoľko enzým AmpErase sa deaktivuje, keď sa vystaví teplotám nad 55 °C.

Hlavná zmes testu **cobas®** BKV obsahuje dve detekčné sondy špecifické pre cieľové sekvencie BKV a jednu pre DNA-QS. Sondy sú označené cieľovo špecifickými fluorescenčnými reportérovými (indikačnými) farbivami, ktoré umožňujú súčasnú detekciu cieľových BKV a DNA-QS vo dvoch rôznych cieľových kanáloch.^{13, 14} Fluorescenčný signál intaktných sond je potláčaný zhášačom (tlmiacim farbivom). Počas kroku PCR amplifikácie vedie hybridizácia sondy k špecifickým jednoláknovým úsekom DNA k jej štiepeniu vplyvom 5' – 3' nukleázovej aktivity DNA polymerázy, čo vedie k separácii reportérových a zhášacích farbív a vzniku fluorescenčného signálu. Pri každom cykle PCR vzniká rastúce množstvo rozštiepených sond, čím súčasne dochádza k zosilneniu kumulovaného signálu reportéra. Zaznamenanie a diskriminácia PCR produktov v reálnom čase sa zavŕši meraním fluorescence uvoľnených signalizačných farieb pre vírusové ciele a DNA-QS.

Činidlá a materiály

cobas® BKV činidlá a kontroly

Materiály poskytované na test cobas® BKV uvádza Tab. 1. Požadované, no neposkytované materiály uvádza Tab. 2 až Tab. 4 a Tab. 8 až Tab. 10.

Informácie o nebezpečnosti produktu nájdete v časti **Činidlá a materiály a Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu**.

Tab. 1 cobas® BKV

cobas® BKV

Skladujte pri 2 – 8 °C

192 testovacích kaziet (P/N 09040960190)

Súčasť súpravy	Zloženie činidiel	Množstvo v súprave 192 testov
Roztok proteinázy (PASE)	Tris pufer, < 0,05 % EDTA, chlorid vápenatý, octan vápenatý, 8 % proteináza, glycerol EUH210: Na požiadanie možno poskytnúť kartu bezpečnostných údajov. EUH208: Obsahuje subtilizín z kmeňa <i>Bacillus subtilis</i> . Môže vyvolať alergickú reakciu.	22,3 ml
Štandard DNA kvantifikácie (DNA QS)	Tris pufer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % látka bez BKV DNA obsahujúca väzbu priméru bez BKV a jedinečná oblasť pre sondu (neinfekčná DNA), < 0,002 % Poly rA RNA (syntetická), < 0,1 % azid sodný	21,2 ml
Elučný pufer (EB)	Tris pufer, 0,2 % metyl-4 hydroxybenzoát	21,2 ml
Hlavná zmes činidla 1 (MMX-R1)	Octan manganatý, hydroxid draselný, < 0,1 % azid sodný	7,5 ml
BKV hlavná zmes činidla 2 (BKV MMX-R2)	Tricínový pufer, octan draselný, < 18 % dimetylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % BKV priméry priame a reverzné, < 0,01 % kvantifikačné štandardy primérov priamych a reverzných, < 0,01 % fluorescenčne značené oligonukleotidové sondy špecifické pre BKV a BKV kvantifikačný štandard, < 0,01 % oligonukleotidový aptamér, < 0,01 % Z05D DNA polymeráza, < 0,10 % AmpErase (uracil-N-glykozyláza) (mikrobiálna), < 0,1 % azid sodný	9,7 ml

Tab. 2 cobas® EBV/BKV Control Kit**cobas® EBV/BKV Control Kit**

Skladujte pri 2 – 8 °C

Určené na použitie v systéme cobas® 5800 (P/N 09040951190)

Určené na použitie v systémoch cobas® 6800/8800 (P/N 08688214190 alebo P/N 09040951190)

Súčasťi súpravy	Zloženie činidiel	Množstvo v súprave	Bezpečnostný symbol a varovanie*
EBV/BKV nízko pozitívna kontrola (EBV/BKV L(+)C)	< 0,001 % syntetický (plazmid) BKV DNA zakapsulovaný v lambda bakteriofágovom obaľovacom proteíne, normálna ľudská plazma, BKV DNA nezistiteľné metódami PCR 0,1 % konzervačná látka ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  VÝSTRAHA H317: Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P261: Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P280: Používajte ochranné rukavice. P333 + P313: Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P362 + P364: Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte. P501: Zneškodnite obsah/nádobu v zariadení schválenom na likvidáciu odpadov. 55965-84-9 Reakčná masa: 5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ónu a 2-metyl-2H-izotiazol-3-ónu (3 : 1).
EBV/BKV vysoko pozitívna kontrola (EBV/BKV H(+)C)	< 0,001 % syntetický (plazmid) BKV DNA zakapsulovaný v lambda bakteriofágovom obaľovacom proteíne, normálna ľudská plazma, BKV DNA nezistiteľné metódami PCR 0,1 % konzervačná látka ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  VÝSTRAHA H317: Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P261: Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P280: Používajte ochranné rukavice. P333 + P313: Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P362 + P364: Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte. P501: Zneškodnite obsah/nádobu v zariadení schválenom na likvidáciu odpadov. 55965-84-9 Reakčná masa: 5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ónu a 2-metyl-2H-izotiazol-3-ónu (3 : 1).

* Označenie bezpečnosti výrobku sa riadi hlavne usmernením EÚ pre globálny harmonizovaný systém (GHS) klasifikácie a označovania chemikálií.

** Nebezpečná látka alebo zmes.

09478124001-03SK

Doc Rev. 3.0

Tab. 3 cobas® Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Skladujte pri 2 – 8 °C

Určené na použitie v systéme cobas® 5800 (P/N 09051953190)

Určené na použitie v systémoch cobas® 6800/8800 (P/N 07002238190 alebo P/N 09051953190)

Súčasťi súpravy	Zloženie činidiel	Množstvo v súprave
cobas® pufer negatívna kontrola (BUF (-) C)	Tris pufer, < 0,1 % azid sodný, EDTA, 0,002 % Poly rA RNA (syntetická)	16 ml (16 × 1 ml)

Činidlá cobas® omni na prípravu vzoriek

Tab. 4 Činidlá cobas® omni na prípravu vzoriek

Činidlá	Zloženie činidiel	Množstvo v súprave	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Skladujte pri 2 – 8 °C (P/N 06997546190)	Magnetické sklenené častice, Tris pufer, 0,1% metyl-4 hydroxybenzoát, < 0,1% azid sodný	480 testov	Netýka sa
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Skladujte pri 2 – 8 °C (P/N 06997511190)	Tris pufer, 0,1 % metyl-4 hydroxybenzoát, < 0,1 % azid sodný	4 × 875 ml	Netýka sa
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Skladujte pri 2 – 8 °C (P/N 06997538190)	43 % (w/w) guanidín tiokyanát**, 5 % (w/v) polidokanol**, 2 % (w/v) ditiotreitol**, dihydrát citrónanu sodného EUH032: Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn.	4 × 875 ml	 NEBEZPEČENSTVO H302 + H332: Zdraviu škodlivý pri požití alebo vdýchnutí. H314: Spôsobuje vážne poleptanie a poškodenie očí. H411: Toxický pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. P303 + P361 + P353: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku opláchnite vodou. P304 + P340 + P310: PO VDÝCHNUTÍ: presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P305 + P351 + P338 + P310: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P391: Zozbierajte uniknutý produkt. 593-84-0 Guanidín tiokyanát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Skladujte pri 15 – 30 °C (P/N 06997503190)	Dihydrát citrónanu sodného, 0,1 % metyl-4 hydroxybenzoát	4,2 l	Netýka sa

* Označenie bezpečnosti výrobku sa riadi hlavne usmernením EÚ pre globálny harmonizovaný systém (GHS) klasifikácie a označovania chemikálií.

** Nebezpečná látka alebo zmes.

Požiadavky na skladovanie činidiel a manipuláciu s nimi

Činidlá sa musia skladovať a musí sa s nimi zaobchádzať tak, ako to uvádza Tab. 5, Tab. 6 a Tab. 7.

Keď činidlá nie sú vložené v systéme cobas® 5800 alebo systémoch cobas® 6800/8800, skladujte ich pri vhodnej teplote (Tab. 5).

Tab. 5 Skladovanie činidiel (keď činidlo nie je v systéme)

Činidlo	Teplota skladovania
cobas® BKV	2 – 8 °C
cobas® EBV/BKV Control Kit	2 – 8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2 – 8 °C
cobas® omni Lysis Reagent	2 – 8 °C
cobas® omni MGP Reagent	2 – 8 °C
cobas® omni Specimen Diluent	2 – 8 °C
cobas® omni Wash Reagent	15 – 30 °C

Požiadavky na manipuláciu s činidlami pre systém cobas® 5800

Činidlá vložené do systému **cobas® 5800** sa uchovávajú pri správnej teplote a ich expiráciu monitoruje systém. Systém umožňuje použiť činidlá, iba ak sú splnené všetky podmienky, ktoré uvádza Tab. 6. Systém automaticky zabráňuje použitiu expirovaných činidiel. Tab. 6 umožňuje používateľovi oboznámiť sa s podmienkami manipulácie s činidlami, ktoré vyžaduje systém **cobas® 5800**.

Tab. 6 Podmienky týkajúce sa expirácie činidiel vyžadované systémom **cobas® 5800**

Činidlo	Dátum expirácie súpravy	Stabilita otvorenej súpravy	Počet cyklov, pri ktorom sa môže táto súprava použiť	Stabilita v zariadení
cobas® BKV	Neexpirované	90 dní od prvého použitia	Max. 40 cyklov	Max. 36 dní**
cobas® EBV/BKV Control Kit	Neexpirované	Netýka sa*	Netýka sa	Max. 36 dní**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Neexpirované	Netýka sa*	Netýka sa	Max. 36 dní**
cobas® omni Lysis Reagent	Neexpirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni MGP Reagent	Neexpirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni Specimen Diluent	Neexpirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni Wash Reagent	Neexpirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa

* Činidlá na jedno použitie.

** Čas sa meria od prvého vloženia činidla do systému **cobas® 5800**.

Požiadavky na manipuláciu s činidlami pre systémy cobas® 6800/8800

Činidlá vložené do systémov **cobas® 6800/8800** sa uchovávajú pri správnej teplote a ich expiráciu monitoruje systém. Systémy **cobas® 6800/8800** umožňujú použiť činidlá, iba ak sú splnené všetky podmienky, ktoré uvádza Tab. 7. Systém automaticky zabráňuje použitiu expirovaných činidiel. Tab. 7 umožňuje používateľovi oboznámiť sa s podmienkami manipulácie s činidlami, ktoré vyžadujú systémy **cobas® 6800/8800**.

Tab. 7 Podmienky týkajúce sa expirácie činidiel vyžadované systémami **cobas® 6800/8800**

Činidlo	Dátum expirácie súpravy	Stabilita otvorenej súpravy	Počet cyklov, pri ktorom sa môže táto súprava použiť	Stabilita v zariadení (súhrnný čas v zariadení mimo chladničky)
cobas® BKV	Neexpirované	90 dní od prvého použitia	Max. 40 cyklov	Max. 40 hodín
cobas® EBV/BKV Control Kit	Neexpirované	Netýka sa*	Netýka sa	Max. 8 hodín
cobas® Buffer Negative Control Kit	Neexpirované	Netýka sa*	Netýka sa	Max. 10 hodín
cobas® omni Lysis Reagent	Neexpirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni MGP Reagent	Neexpirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni Specimen Diluent	Neexpirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni Wash Reagent	Neexpirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa

* Činidlá na jedno použitie.

** Čas sa meria od prvého vloženia činidla do systémov **cobas® 6800/8800**.

Ďalšie vyžadované materiály pre systém cobas® 5800

Tab. 8 Materiály a spotrebné materiály na použitie v systéme **cobas® 5800**

Materiál	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Špička CORE TIPS s filtrom, 1 ml	04639642001
Špička CORE TIPS s filtrom, 300 µl	07345607001
Nádoba na tekutý odpad cobas® omni	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Vrecko na tuhý odpad alebo Vrece na tuhý odpad s vložkou	07435967001 alebo 08030073001
cobas® omni sekundárne skúmavky 13 × 75 (voliteľné)	06438776001
Súprava so sekundárnymi skúmavkami s médiom cobas® PCR Media*	07958048190
Súprava náhradných viečok na skúmavky s médiom cobas® PCR Media	07958056190
Stojan na jednorazové skúmavky s médiom cobas® PCR Media (voliteľný)	07958064190
Stojan MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 2001-2050*. **	03143449001
Stojan RD5 RACK – RD Standard rack 0001-0050 LR*. **	11902997001
Nosič skúmaviek so 16 polohami*	09224319001
Stojanový nosič s 5 polohami*	09224475001

* Ak potrebujete podrobný objednávací zoznam stojanov na vzorky, obráťte sa na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

** Stojan MPA 16 mm alebo nosič skúmaviek so 16 polohami sú preferovanými stojanmi pri práci so vzorkami odobratými do skúmaviek s médiom **cobas® PCR Media**.

Ďalšie vyžadované materiály pre systémy cobas® 6800/8800

Tab. 9 Materiály a spotrebný materiál pre použitie v systémoch **cobas®** 6800/8800

Materiál	P/N
cobas® omni Processing Plate	05534917001
cobas® omni Amplification Plate	05534941001
Pipetové špičky cobas® omni	05534925001
Nádoba na tekutý odpad cobas® omni	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Vrece na tuhý odpad a nádoba na tuhý odpad alebo Vrece na tuhý odpad s vložkou a aktualizácia zásuvky na súpravu pre tuhý odpad	07435967001 a 07094361001 alebo 08030073001 a 08387281001
cobas® omni sekundárne skúmavky 13 × 75 (voliteľné)	06438776001
Súprava so sekundárnymi skúmavkami s médiom cobas® PCR Media*	07958048190
Súprava náhradných viečok na skúmavky s médiom cobas® PCR Media	07958056190
Stojan na jednorazové skúmavky s médiom cobas® PCR Media (voliteľný)	07958064190
Stojan MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 2001-2050*, **	03143449001

* Ak potrebujete podrobný objednávací zoznam stojanov na vzorky, stojanov na špičky so zrazeninou a zásuvkových stojanov, ktoré je možné použiť v týchto prístrojoch, obráťte sa na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

** Stojan MPA 16 mm je preferovaným stojanom pri práci so vzorkami odobratými do skúmaviek s médiom **cobas®** PCR Media.

Tab. 10 Súpravy na odber vzoriek moču na použitie s testom **cobas®** BKV

Súprava na odber	P/N
Súprava na vzorky moču s médiom cobas® PCR Urine Sample Kit	05170486190
cobas® PCR Media Kit	06466281190

Poznámka: Súprava **cobas®** PCR Urine Sample Kit sa používa na odber a prepravu vzoriek moču. Každá súprava **cobas®** PCR Urine Sample Kit obsahuje 100 vreciek na vzorky moču **cobas®** PCR. Každé vrecko obsahuje 1 jednorazovú pipetu a 1 skúmavku s médiom **cobas®** PCR Media so 4,3 ml média **cobas®** PCR Media. Médium **cobas®** PCR Media slúži ako transportné a skladovacie médium na stabilizáciu nukleových kyselín pre vzorky moču.

V prípade vzoriek moču zaslaných priamo do laboratória bez použitia súpravy na odber vzoriek moču **cobas®** PCR Urine Sample Kit na odber sa môže ako alternatíva použiť súprava média **cobas®** PCR Media, ktorá obsahuje 100 skúmaviek s médiom **cobas®** PCR Media (bez jednorazových pipiet), no moč sa musí preniesť do 24 hodín od odberu.

Vyžadované prístrojové vybavenie a softvér

Softvér systému **cobas® 5800** a analytický balík testu **cobas® BKV** pre systém **cobas® 5800** sa musia nainštalovať do prístroja **cobas® 5800**. Softvér Data Manager a PC pre systém **cobas® 5800** sa dodajú spolu so systémom.

Softvér systému **cobas® 6800/8800** a analytický balík testu **cobas® BKV** sa musí nainštalovať do prístrojov. Server Instrument Gateway (IG) bude dodaný so systémom.

Tab. 11 Prístroje

Príslušenstvo	P/N
Systém cobas® 5800	08707464001
Systém cobas® 6800 System (prenosná verzia)	05524245001 a 06379672001
Systém cobas® 6800 System (neprenosná verzia)	05524245001 a 06379664001
Systém cobas® 8800	05412722001
Modul na podávanie vzoriek	06301037001

Ďalšie informácie nájdete v používateľskej príručke a/alebo návode na obsluhu systému **cobas® 5800** alebo systémov **cobas® 6800/8800**.

Poznámka: Ak potrebujete podrobný objednávací zoznam primárnych a sekundárnych skúmaviek na vzorky, stojanov na vzorky, stojanov na špičky so zrazeninou a zásuvkových stojanov, ktoré je možné použiť v týchto prístrojoch, obráťte sa na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

V rámci testu **cobas® BKV** je možné použiť primárnu skúmavku použitú na typy vzoriek moču odobratých do média **cobas® PCR Media**.

Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu

Výstrahy a preventívne opatrenia

Ako pri každej testovacej procedúre, aj v tomto prípade platí, že základom správneho vykonania tejto analýzy je dodržanie osvedčených laboratórnych postupov. Vzhľadom na vysokú citlivosť tohto testu je potrebné zachovať najvyššiu opatrnosť pri uchovaní čistoty činidiel a amplifikačných zmesí.

- Iba na diagnostické použitie *in vitro*.
- Test **cobas®** BKV nebol validovaný na testovanie prítomnosti BKV v krvi alebo krvných produktoch.
- So všetkými vzorkami od pacientov sa musí zaobchádzať ako s infekčným materiálom a musia sa dodržiavať osvedčené laboratórne postupy uvedené v materiáli Biologická bezpečnosť v mikrobiologických a biomedických laboratóriách (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories) a v dokumente CLSI M29-A4.^{15, 16} Túto procedúru musia vykonávať len osoby so skúsenosťami s používaním systémov **cobas®** BKV a **cobas®** 5800/6800/8800 vyškolené v oblasti manipulácie s infekčnými materiálmi.
- Všetky produkty z ľudského tela musia byť považované za potenciálne infekčné a malo by sa s nimi narábať v súlade s bežnými bezpečnostnými pokynmi. Ak dôjde k rozliatiu, zasiahnuté miesto okamžite dezinfikujte čerstvo pripraveným 0,6 % roztokom chlórnanu sodného alebo draselného v destilovanej alebo deionizovanej vode alebo postupujte podľa príslušných smerníc daného pracoviska.
- Kontrolná súprava **cobas®** EBV/BKV Control Kit obsahuje plazmu odvodenú z ľudskej krvi. Zdrojový materiál testovali pomocou metód PCR a preukázal prijateľné stopy nízkych hodnôt BKV DNA. Žiadna známa testovacia metóda nemôže plne zaručiť, že nedôjde k prenosu infekčných činiteľov produktmi odvodenými z ľudskej krvi.
- **Nezmrazujte plnú krv ani akékoľvek vzorky moču uložené v primárnych skúmavkách.**
- Ak chcete zabezpečiť optimálne vykonanie testu, používajte len dodaný alebo špecifikovaný vyžadovaný spotrebný materiál.
- Karty bezpečnostných údajov (SDS) sú k dispozícii na požiadanie od miestneho zástupcu spoločnosti Roche.
- Dôsledne dodržiavajte poskytnuté postupy a usmernenia, aby ste zabezpečili správne vykonanie testu. Akákoľvek odchýlka od postupov a usmernení môže mať vplyv na optimálny priebeh testu.
- Ak sa pri manipulácii so vzorkami a ich spracovaní primerane nekontroluje prenos vzoriek, môže dôjsť k chybným pozitívnym výsledkom.
- Médium **cobas®** PCR Media (z primárnej skúmavky na vzorku) obsahuje guanidín hydrochlorid. **Dbajte na to, aby nedošlo k priamemu kontaktu guanidín hydrochloridu a chlórnanu sodného (bieliaci roztok) alebo vysokoreaktívnych činidiel, akými sú napr. kyseliny alebo zásady. Tieto zmesi môžu uvoľňovať škodlivý plyn.** Ak dôjde k rozliatiu tekutiny, ktorá obsahuje guanidín hydrochlorid, vyčistite zasiahnuté miesto vhodným laboratórnym detergentom a vodou. Ak rozliata kvapalina obsahuje potenciálne infekčné látky, zasiahnuté miesto **NAJSKÔR** vyčistite laboratórnym detergentom a vodou a potom 0,6 % roztokom chlórnanu sodného alebo draselného.
- Informujte miestny kompetentný orgán a výrobcu o všetkých závažných udalostiach, ktoré sa môžu vyskytnúť pri používaní tohto testu.

Manipulácia s činidlami

- So všetkými činidlami, kontrolami a vzorkami zaobchádzajte v súlade s osvedčenými laboratórnymi postupmi tak, aby sa predišlo prenosu vzoriek alebo kontrol.
- Pred použitím skontrolujte všetky kazety s činidlami, rozpúšťadlá, dezintegračné činidlá a premývacie činidlá, či nevykazujú znaky unikania. Ak činidlo uniká, tento materiál na testovanie nepoužívajte.
- Dezintegračné činidlo **cobas® omni** Lysis Reagent obsahuje guanidín tiokyanát, čo je potenciálne nebezpečná chemikália. Dbajte na to, aby nedošlo ku kontaktu činidiel s pokožkou, očami alebo sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu, zasiahnuté miesto okamžite opláchnite veľkým množstvom vody. V opačnom prípade hrozí riziko popálenín.
- Testovacie súbory **cobas® BKV**, **cobas® omni** MGP Reagent a **cobas® omni** Specimen Diluent obsahujú azid sodíka ako konzervačný prípravok. Dbajte na to, aby nedošlo ku kontaktu činidiel s pokožkou, očami alebo sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu, zasiahnuté miesto okamžite opláchnite veľkým množstvom vody. V opačnom prípade hrozí riziko popálenín. Ak dôjde k rozliatiu týchto činidiel, pred ich vysušením rozliate činidlá zriedte vodou.
- Dbajte na to, aby nedošlo ku kontaktu dezintegračného činidla **cobas® omni** Lysis Reagent, ktoré obsahuje guanidíntiokyanát, s chlórnanovým (bieliacim) roztokom. V opačnom prípade môže dôjsť k tvorbe vysokotoxického plynu.
- Všetky materiály, ktoré prišli do styku so vzorkami a činidlami, zlikvidujte v súlade so štátnymi a miestnymi predpismi.

Vhodné laboratórne postupy

- Pipetu nenaplňajte pomocou úst.
- V pracovných priestoroch nejedzte, nepite a nefajčite.
- Pri manipulácii so vzorkami a činidlami používajte laboratórne rukavice, laboratórne plášte a ochranné prostriedky na oči. Aby sa zabránilo kontaminácii, medzi jednotlivými manipuláciami so vzorkami a súpravami **cobas® BKV**, kontrolou EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C), kontrolou EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C), súpravami **cobas®** Buffer Negative Control Kit a činidlami **cobas® omni** je potrebné, aby si operátor vymenil rukavice. Pri manipulácii so vzorkami a kontrolami dbajte na to, aby nedošlo ku kontaminácii rukavíc.
- Po ukončení práce so vzorkami a činidlami súbory a po sňatí rukavíc si dôkladne umyte ruky.
- Všetky pracovné povrchy v laboratóriu dôkladne vyčistite a vydezinfikujte pomocou čerstvo pripraveného 0,6 % roztoku chlórnanu sodného alebo draselného v deionizovanej alebo destilovanej vode. Následne pracovné povrchy utrite utierkou namočenou do 70 % etanolu.
- Ak dôjde k rozliatiu na prístroji **cobas®** 5800 alebo **cobas®** 6800/8800, postupujte podľa pokynov v používateľskej príručke a/alebo návode na obsluhu systémov **cobas®** 5800 alebo **cobas®** 6800/8800, aby sa povrch materiálu poriadne vyčistil a dekontaminoval.

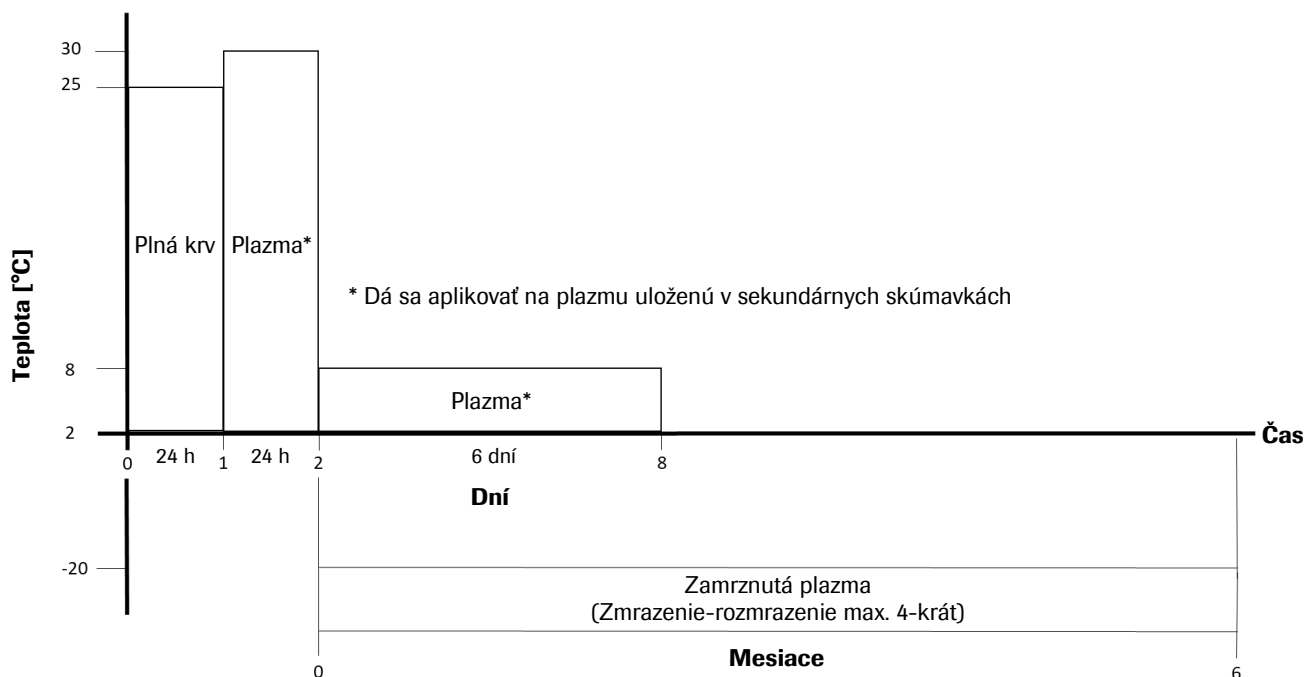
Odber, preprava a skladovanie vzoriek

Poznámka: so všetkými vzorkami a kontrolnými vzorkami zaobchádzajte tak, ako keby boli schopné prenosu infekčných činiteľov.

Vzorky EDTA plazmy

- Všetky vzorky skladujte pri určených teplotách. Zvýšenie teploty má vplyv na stabilitu vzoriek.
- Ak používate zmrazené vzorky v sekundárnych skúmavkách, nechajte vzorky temperovať pri izbovej teplote (15 až 30 °C), až kým sa úplne nerozpustia, potom ich zľahka premiešajte (napr. vortexovaním po dobu 3 – 5 sekúnd) a odstredte, aby sa celý obsah vzorky zhromaždil na dne skúmavky.
- Plná krv sa musí odberať do skúmaviek BD Vacutainer® PPT™ na prípravu plazmy pre molekulárne diagnostické testovacie metódy alebo do sterilných skúmaviek za použitia EDTA ako antikoagulantu. Postupujte podľa pokynov výrobcu pre odber vzoriek. Pozrite si Obr. 1.
- Celá krv odobratá do skúmaviek na prípravu plazmy BD Vacutainer® PPT™ na molekulárne diagnostické testovacie metódy alebo do sterilných skúmaviek pomocou antikoagulantu EDTA sa môže skladovať alebo prepravovať do 24 hodín pri teplote 2 – 25 °C pred prípravou plazmy. Odstredovanie sa musí vykonať podľa pokynov výrobcu.
- Po oddelení sa vzorky plazmy môžu skladovať 24 hodín pri 2 až 30 °C v primárnych alebo sekundárnych skúmavkách, a následne:
 - Skladujte v primárnych alebo sekundárnych skúmavkách max. 6 dní pri teplote 2 až 8 °C.
 - Skladujte s sekundárnych skúmavkách max. 6 mesiacov pri teplote ≤ -20 °C.
- Vzorky plazmy sú stabilné počas max. 4 cyklov zmrazenia/rozmrazenia, keď sú zamrazené na ≤ -20 °C.
- Ak chcete vzorky prepravovať, je potrebné ich zabaliť a označiť v súlade s platnými štátnymi alebo medzinárodnými predpismi zahŕňajúcimi prepravu vzoriek a etiologických látok.

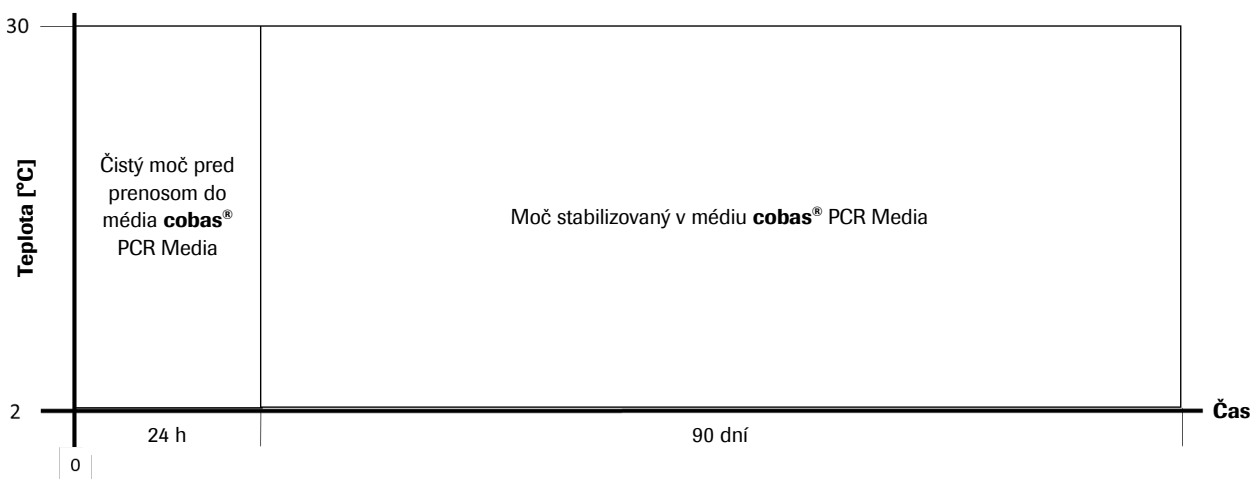
Obr. 1 Podmienky skladovania vzoriek EDTA plazmy



Vzorky moču

- Na odber a stabilizáciu vzoriek moču pre test **cobas®** BKV používajte len súpravu na vzorky moču **cobas®** PCR Urine Sample Kit. Test **cobas®** BKV nebol schválený na použitie s inými pomôckami na odber moču ani inými typmi médií. Používanie testu **cobas®** BKV s inými pomôckami na odber moču alebo inými typmi médií môže viesť k nepravdivým negatívnym, nepravdivým pozitívnym alebo neplatným výsledkom.
- Vzorky moču musia byť do skúmavky (stabilizovanej) s médiom **cobas®** PCR Media prenesené okamžite. Ak vzorky nemožno preniesť okamžite, môžu sa skladovať maximálne 24 hodín pri teplote 2 °C až 30 °C. Po stabilizácii vzoriek moču v médiu **cobas®** PCR Media sa dajú vzorky skladovať maximálne 90 dní pri teplote 2 až 30 °C. Pozrite si Obr. 2.
- Netestované vzorky moču musia mať vrch hladiny kvapaliny medzi dvoma čiernymi čiarami na okienku štítku na skúmavke s médiom **cobas®** PCR Media. Ak je hladina kvapaliny nižšie alebo vyššie ako tieto čiary, vzorka nebola správne odobratá a nemôže sa použiť na testovanie.
- Ak nemáte dostatočný objem moču (4,3 ml) na zriedenie v skúmavke na vzorku moču **cobas®** PCR Urine Sample tube, moč možno zriediť manuálne pomocou média **cobas®** PCR Media. Pred testovaním pomocou testu **cobas®** BKV treba v médiu **cobas®** PCR Media zriediť aspoň 0,5 ml čistého moču (pomer 1 : 1).
- Ak chcete zabrániť krížovej kontaminácii spracovaných vzoriek, používajte na skúmavky s médiom **cobas®** PCR Media ďalšie uzávery s alternatívnymi farbami (bezfarebné, pozrite časť **Ďalšie vyžadované materiály**), ktorými môžete uzavrieť vzorky po ich spracovaní.
- Ak sa vyžaduje ďalšie testovanie, v skúmavke s médiom **cobas®** PCR Media musí zostať aspoň 1,2 ml vzorky.
- Ak chcete vzorky prepravovať, je potrebné ich zabaliť a označiť v súlade s platnými štátnymi alebo medzinárodnými predpismi zahŕňajúcimi prepravu vzoriek a etiologických látok.

Obr. 2 Podmienky skladovania vzoriek moču



Návod na použitie

Procedurálne poznámky

- Nepoužívajte činidlá **cobas®** BKV, **cobas®** EBV/BKV Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit alebo činidlá **cobas®** omni po dátumoch ich expirácie.
- Spotrebný materiál nepoužívajte opakovane. Je určený iba na jedno použitie.
- Dbajte na to, aby boli štítky s čiarovými kódmi vzoriek na skúmavkách so vzorkami viditeľné cez otvory na bočnej strane stojanov na vzorky RD5 alebo MPA. Správne špecifikácie čiarových kódov a ďalšie informácie o vkladaní skúmaviek so vzorkami nájdete v návode na obsluhu systému **cobas®** 5800 alebo systémov **cobas®** 6800/8800.
- Informácie o správnej údržbe nástrojov nájdete v používateľskej príručke a/alebo návode na obsluhu systému **cobas®** 5800 alebo systémov **cobas®** 6800/8800.

Spustenie testu **cobas®** BKV v systéme **cobas®** 5800

Analýzu **cobas®** BKV je možné vykonať pri minimálnom požadovanom objeme vzorky 350 µl pre EDTA plazmu (pre postup so vzorkou s objemom 200 µl) a 550 µL pre vzorky stabilizovaného moču (pre postup so vzorkou s objemom 400 µl). Postup testu je podrobne opísaný v používateľskej príručke a/alebo návode na obsluhu systému **cobas®** 5800. Obr. 3 uvedený nižšie obsahuje súhrnné informácie o procedúre.

- Vzorky sa musia otvoriť a vložiť priamo do stojanov na spracovanie v systéme **cobas®** 5800.
- Jeden cyklus môže obsahovať kombináciu vzoriek (plazma, stabilizovaný moč).

Vzorky v EDTA plazme a vzorky stabilizovaného moču treba spracovať pomocou výberu typu vzorky v používateľskom rozhraní (UI) testu **cobas®** BKV, ako uvádza Obr. 3, krok 2.

Obr. 3 Postup testu **cobas®** BKV v systéme **cobas®** 5800

1	Prihláste sa do systému. Stlačením tlačidla „Start“ (Štart) pripravte systém.
2	Vložte vzorky do systému: • Vložte stojany na vzorky do systému. • Systém sa pripraví automaticky. • Vyžiadajte vykonanie testov. - o Vyberte možnosť „Plasma“ (Plazma) na vyžiadanie vzoriek EDTA plazmy. - o Vyberte možnosť „Urine“ (Moč) na vyžiadanie vzoriek moču odobratých do média cobas® PCR Media. ▪ Otvorte skúmavku. ▪ Preneste skúmavku priamo do stojana.
3	Doplňte činidlá a spotrebný materiál podľa pokynov systému: • Vložte kazety so špecifickými testovacími činidlami. • Vložte ministožany s kontrolami. • Vložte špičky na spracovanie. • Vložte elučné špičky. • Vložte platničky na spracovanie. • Vložte platničky na tekutý odpad. • Vložte platničky na amplifikáciu. • Vložte kazetu s MGP. • Doplnite riedidlo na vzorky. • Doplnite dezintegračné činidlo. • Doplnite výplachové činidlo.
4	Spustíte cyklus pomocou tlačidla Start processing na používateľskom rozhraní; všetky ďalšie prevádzky sa spustia automaticky, ak sa neodložia manuálne.
5	Skontrolujte a exportujte výsledky.
6	V prípade potreby vyberte a uzavrite na budúce použitie skúmavky so vzorkami, ktoré vyhovujú minimálnym požiadavkám na objem. Vyčistite prístroj: • Vyberte prázdne ministožany s kontrolami. • Vyberte prázdne kazety so špecifickými testovacími činidlami. • Vyprázdňte zásuvku s platničkou na amplifikáciu. • Odstráňte tekutý odpad. • Odstráňte tuhý odpad.

Spustenie testu cobas® BKV v systémoch cobas® 6800/8800

Analýzu cobas® BKV je možné vykonať pri minimálnom požadovanom objeme vzorky 350 µl pre EDTA plazmu (pre postup so vzorkou s objemom 200 µl) a 550 µL pre vzorky stabilizovaného moču (pre postup so vzorkou s objemom 400 µl). Postup testu prístroja je podrobne opísaný v používateľskej príručke a/alebo návode na obsluhu systému cobas® 6800/8800. Obr. 4 uvedený nižšie obsahuje súhrnné informácie o procedúre.

- Vzorky sa musia otvoriť a vložiť priamo do stojanov na spracovanie v systémoch cobas® 6800/8800.
- Jeden cyklus môže obsahovať kombináciu vzoriek (plazma, stabilizovaný moč).
- Vzorky v EDTA plazme a vzorky stabilizovaného moču treba spracovať pomocou výberu typu vzorky v používateľskom rozhraní (UI) testu cobas® BKV, ako uvádza Obr. 4, krok 1.

Obr. 4 Postup testu cobas® BKV v systémoch cobas® 6800/8800

1	Prihláste sa do systému. Stlačením tlačidla „Start“ (Štart) pripravte systém. Vyžiadajte vykonanie testov: • Vyberte možnosť „Plasma“ (Plazma) na vyžiadanie vzoriek EDTA plazmy. • Vyberte možnosť „Urine“ (Moč) na vyžiadanie vzoriek moču odobratých do média cobas® PCR Media.
2	Doplňte činidlá a spotrebný materiál podľa pokynov systému: • Vložte kazetu so špecifickými testovacími reagensiami. • Vložte kazety s kontrolami. • Vložte špičky pipiet. • Vložte platničky na spracovanie. • Vložte činidlo MGP. • Vložte platničky na amplifikáciu. • Doplňte riedidlo na vzorky. • Doplňte dezintegračné činidlo. • Doplňte výplachové činidlo.
3	Vložte vzorky do systému: • Pre primárne vzorky moču odobraté do média cobas® PCR Media. - o Otvorte skúmavku. - o Preneste skúmavku priamo do stojana. • Vložte stojan na vzorky a stojany na špičky so zrazeninou do modulu na podávanie vzoriek. • Skontrolujte, či prenosový modul akceptoval vzorky.
4	Uvedte do prevádzky pomocou tlačidla „Start manually“ (Štart manuálne) na používateľskom rozhraní alebo nechajte, nech sa spustí automaticky po 120 minútach alebo keď je testovací cyklus plný.
5	Skontrolujte a exportujte výsledky.
6	V prípade potreby vyberte a uzavrite na budúce použitie skúmavky so vzorkami, ktoré vyhovujú minimálnym požiadavkám na objem. Vyčistite prístroj: • Vyberte prázdne kazety na kontroly. • Vyprázdňte zásuvku s platničkou na amplifikáciu. • Odstráňte tekutý odpad. • Odstráňte tuhý odpad.

Výsledky

Systémy **cobas**® 5800/6800/8800 automaticky určia koncentráciu BKV DNA pre vzorky a regulátory. Koncentrácia BKV DNA je vyjadrená v medzinárodných jednotkách na milimeter (IU/ml).

Kontrola kvality a platnosť výsledkov v systéme **cobas**® 5800

- Minimálne každých 72 hodín a pri každej novej šarži súpravy sa vykonáva jedna negatívna kontrola [(-) Ctrl] a dve pozitívne kontroly, nízkopozitívna kontrola [EBV/BKV L (+) C] a vysokopozitívna kontrola [EBV/BKV H (+) C]. Pozitívne a/alebo negatívne kontroly sa môžu naplánovať častejšie podľa laboratórnych postupov a/alebo miestnych smerníc.
- Skontrolujte, či sa v softvéri systému **cobas**® 5800 a/alebo správe nevyskytujú príznaky, a pozrite si súvisiace výsledky, aby ste sa uistili, že je výsledok platný.

Zneplatnenie výsledkov vykoná automaticky softvér **cobas**® 5800 na základe zlyhania negatívnej alebo pozitívnej kontroly vzorky.

POZNÁMKA: Systém **cobas**® 5800 sa dodáva so štandardným nastavením prevádzky skupiny kontrol (pozitívnych a negatívnych) pre každý cyklus, môže sa však nakonfigurovať na menej častý harmonogram až do 72 hodín podľa laboratórnych postupov a/alebo miestnych smerníc. Ak potrebujete viac informácií, obráťte sa na servisného technika spoločnosti Roche alebo na oddelenie technickej podpory zákazníkov.

Výsledky kontrolných vzoriek v systéme **cobas**® 5800

Výsledky kontrolných vzoriek sa zobrazujú v softvéri **cobas**® 5800 v aplikácii „Controls“.

- Kontrolné vzorky sú v stĺpci „Control result“ označené ako „Valid“, ak sa všetky ciele kontrolnej vzorky zaznamenajú ako platné. Kontrolné vzorky sú v stĺpci „Control result“ označené ako „Invalid“, ak sa jeden alebo viaceré ciele kontrolnej vzorky zaznamenajú ako neplatné.
- Kontrolné vzorky označené ako „Invalid“ zobrazujú príznak v stĺpci „Flags“. Ďalšie informácie o tom, prečo je kontrolná vzorka zaznamenaná ako neplatná, vrátane informácií o príznaku, sa budú zobrazovať v podrobnom zobrazení.
- Ak je jedna z kontrol neplatná, je potrebné zopakovať testovanie všetkých kontrol a všetkých príslušných vzoriek.

Kontrola kvality a platnosť výsledkov v systémoch cobas® 6800/8800

- Pri každom testovacom cykle sa vykonáva jedna negatívna kontrola [(-) Ctrl] a dve pozitívne kontroly, nízkopozitívna kontrola [EBV/BKV L (+) C] a vysokopozitívna kontrola [EBV/BKV H (+) C].
- Skontrolujte, či sa v softvéri **cobas® 6800/8800** a/alebo správe nevyskytujú upozornenia a pozrite si súvisiace výsledky, aby ste sa uistili, že je cyklus platný.
- Testovací cyklus je platný, ak sa žiadny príznak neobjavuje pri žiadnej z troch kontrol, ktoré zahŕňajú jednu negatívnu kontrolu a dve pozitívne kontroly: EBV/BKV L (+) C, EBV/BKV H (+) C. Výsledok negatívnej kontroly sa zobrazuje ako (-) Ctrl a nízka a vysoká pozitívna kontrola sa zobrazujú ako EBV/BKV L (+) C a EBV/BKV H (+) C.

Zneplatnenie výsledkov vykoná automaticky softvér **cobas® 6800/8800** na základe zlyhania negatívnej a pozitívnej kontroly vzorky.

Kontrolné príznaky v systémoch cobas® 6800/8800

Tab. 12 Príznaky kontrolných vzoriek pre negatívne a pozitívne kontrolné vzorky

Negatívna kontrola	Príznak	Výsledok	Interpretácia
(-) Ctrl	Q02 (Kontrola testovacieho cyklu zlyhala)	Invalid	Neplatný výsledok alebo výsledok vypočítanej titrácie pre negatívnej kontroly nie je negatívny.
Pozitívna kontrola	Príznak	Výsledok	Interpretácia
EBV/BKV L (+) C	Q02 (Kontrola testovacieho cyklu zlyhala)	Invalid	Neplatný výsledok alebo vypočítaný výsledok titrácie pre nízkopozitívnu kontrolnú látku je mimo priradeného rozsahu.
EBV/BKV H (+) C	Q02 (Kontrola testovacieho cyklu zlyhala)	Invalid	Neplatný výsledok alebo vypočítaný výsledok titrácie pre vysokopozitívnu kontrolnú látku je mimo priradeného rozsahu.

Ak je kontrola testovacieho cyklu neplatná, skontrolujte testovanie všetkých vzoriek predmetného testovacieho cyklu.

Interpretácia výsledkov

Pri platnej dávke skontrolujte v softvéroch systémov **cobas® 5800** a **cobas® 6800/8800** a/alebo správe, či sa pri jednotlivých vzorkách nevyskytli symboly vlajky. Výsledky interpretácie majú byť nasledovné:

- Platná dávka môže zahŕňať platné aj neplatné výsledky vzoriek.

Tab. 13 Cieľové výsledky pre jednotlivé interpretácie cieľových výsledkov

Výsledky	Interpretácia
Target Not Detected	BKV DNA nebol zistený. Výsledky interpretujte ako „BKV nezistený“.
< Titer Min ^a	Vypočítaná titrácia je nižšia ako spodný limit kvantifikácie (LLOQ) tejto analýzy. Výsledky interpretujte ako „BKV zistený, menej ako (Titer Min)“. Minimálna titrácia v EDTA plazme = 21,5 IU/ml Minimálna titrácia v moči = 200 IU/ml
Titer	Vypočítaná titrácia je v rámci lineárneho rozsahu analýzy – väčšia ako alebo rovná Titer Min a menšia ako alebo rovná Titer Max. Výsledky interpretujte ako „(Titer) BKV zistený“.
> Titer Max ^b	Vypočítaná titrácia je vyššia ako vrchný limit kvantifikácie (LLOQ) tejto analýzy. Výsledky interpretujte ako „BKV zistený, väčší ako (Titer Max)“. Maximálna titrácia v EDTA plazme a moči = 1,0E+08 IU/ml

^a Výsledky vzorky < Titer Min (zistený cieľ < LLOQ) by sa mali interpretovať v kontexte s inými klinickými údajmi a nemali by slúžiť ako jediný základ na prijímanie liečebných rozhodnutí.

^b Výsledok vzorky > Titer Max odkazuje na BKV pozitívne vzorky zistené s titraciami nad vrchným limitom kvantifikácie (ULOQ). Ak sa vyžadujú kvantitatívne výsledky pre vzorky EDTA plazmy, pôvodnú vzorku treba zriediť s BKV negatívnou ľudskou EDTA plazmou a test sa musí opakovať. Hlásený výsledok vynásobte zriedovacím faktorom.

Interpretácia výsledkov v systéme cobas® 5800

Výsledky vzoriek sa zobrazujú v softvéri **cobas® 5800** v aplikácii „Results“.

Pri platnej kontrolnej dávke skontrolujte v softvéri systému **cobas® 5800** a/alebo správe, či sa pri jednotlivých vzorkách nevyskytli príznaky. Výsledky interpretácie majú byť nasledovné:

- Vzorky spojené s platnou kontrolnou dávkou sa v stĺpci „Control result“ zobrazujú ako „Valid“, ak sa všetky cieľové výsledky pre kontroly zaznamenali ako platné. Vzorky spojené s neplatnou kontrolnou dávkou sa v stĺpci „Control result“ zobrazujú ako „Invalid“, ak sa všetky cieľové výsledky pre kontroly zaznamenali ako neplatné.
- Ak sú príslušné kontroly výsledku pre vzorku neplatné, k výsledku pre vzorku sa pridá špecifický príznak nasledujúcim spôsobom:
 - Q05D: Zlyhanie overenia výsledku v dôsledku neplatnej pozitívnej kontroly.
 - Q06D: Zlyhanie overenia výsledku v dôsledku neplatnej negatívnej kontroly.
- Hodnoty v stĺpci „Results“ pre cieľový výsledok jednotlivej vzorky by sa mali interpretovať tak, ako je znázornené v Tab. 13 vyššie.

Ak sú jeden alebo viaceré ciele vo vzorke označené ako „Invalid“, softvér **cobas® 5800** zobrazuje príznak v stĺpci „Flags“. Ďalšie informácie o tom, prečo sú ciele vo vzorke zaznamenané ako neplatné, vrátane informácií o príznaku, sa budú zobrazovať v podrobnom zobrazení.

Interpretácia výsledkov v systémoch cobas® 6800/8800

Pri platnom cykle skontrolujte v softvéri systémov **cobas®** 6800/8800 a/alebo správe, či sa pri jednotlivých vzorkách nevyskytli príznaky. Výsledky interpretácie majú byť nasledovné:

- Vzorky sú označené „Yes“ v stĺpci „Valid“, ak všetky požadované cieľové výsledky vykazovali platné výsledky. Vzorky označené „No“ v stĺpci „Valid“ môžu vyžadovať ďalšiu interpretáciu a kroky.
- Hodnoty pre cieľový výsledok jednotlivej vzorky by sa mali interpretovať tak, ako je znázornené v Tab. 13 vyššie.

Procedurálne obmedzenia

- Test **cobas®** BKV bol ohodnotený len na použitie v kombinácii s **cobas®** EBV/BKV Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit, **cobas® omni** MGP Reagent, **cobas® omni** Lysis Reagent, **cobas® omni** Specimen Diluent a **cobas® omni** Wash Reagent na použitie v systémoch **cobas®** 5800/6800/8800.
- Spoľahlivosť výsledkov závisí od správneho postupu odberu, uchovávaní a spracovania vzoriek.
- Tento test bol schválený iba na použitie s EDTA plazmou a stabilizovaným močom. Testovanie iných typov vzoriek pomocou testu **cobas®** BKV môže spôsobiť nepresné výsledky. Merania úrovne DNA z plazmy a stabilizovaného moču nie sú priamo navzájom ani s inými typmi vzoriek porovnateľné.
- Kvantifikáciu BKV DNA môže ovplyvniť metóda odberu vzorky, faktory pacienta (napr. vek, prítomnosť symptómov) a/alebo stav infekcie.
- Degradácia BKV DNA v čistom moči môže ovplyvniť kvantifikáciu.¹⁷ Na dosiahnutie stability vzorky sa vyžaduje prenos moču do média **cobas®** PCR Media.
- Kvantitatívna variabilita BKV DNA inherentnej pre moč sa pozorovala pri pokusoch o stabilitu vzoriek v rôznych časových bodoch odberu vzoriek (čistý moč) alebo v rôznych alikvotných častiach tej istej vzorky (čistý moč a moč stabilizovaný v médiu **cobas®** PCR Media).
- Vzhľadom na tieto obmedzenia sa majú výsledky BKV DNA v moči interpretovať uvažlivo v súvislosti s klinickými a inými laboratórnymi nálezmi a nesmú byť jediným základom rozhodnutí o liečbe.
- Moč môže obsahovať vysoké úrovne BKV DNA s rizikom prenosu kontaminácie.¹⁸
- Ako pri každom molekulárnom teste, mutácie v rámci cieľových oblastí testu **cobas®** BKV by mohli ovplyvniť viazanie priméru a/alebo sondy, čo má za následok podhodnotenie množstva vírusu alebo zlyhanie zaznamenania prítomnosti vírusu.
- V dôsledku príslušných odlišností medzi technológiami sa odporúča, aby používateľ pred zmenou technológie v laboratóriu vykonal štúdie korelácie metódy na účely kvalifikácie technologických rozdielov. Používatelia sa musia riadiť svojimi špecifickými zásadami alebo postupmi.
- Test **cobas®** BKV nie je určený na testovanie prítomnosti BKV v krvi alebo krvných produktoch.

Hodnotenie neklinickej účinnosti

Kľúčové ukazovatele účinnosti pre vzorky typu EDTA plazma použité v systémoch cobas® 6800/8800

Detekčný limit (LoD), medzinárodný štandard WHO

Detekčný limit testu cobas® BKV pre medzinárodný štandard WHO bol určený analýzou sériových riedení 1. medzinárodného štandardu WHO BKV získaného z NIBSC (NIBSC 14/212) v BKV negatívnej ľudskej EDTA plazmy. Skupina šiestich úrovní koncentrácie plus slepá sa testovali na troch šaržiach činidiel cobas® BKV, viacnásobnými cyklami, počas viacerých dní, rôznymi operátormi a na viacerých prístrojoch.

Výsledky pre EDTA plazmu uvádza Tab. 14 a Tab. 16. Štúdia ukazuje, že pri najmenej citlivej šarži je koncentrácia, pre ktorú PROBIT predpokladá 95-percentnú mieru úspešnosti, 21,5 IU/ml s 95-percentným rozsahom spoľahlivosti od 16,3 do 32,4 IU/ml v EDTA plazme. Najnižšia koncentrácia s mierou úspešnosti $\geq 95\%$ je 19,0 IU/ml v EDTA plazme.

Tab. 14 Detekčný limit v EDTA plazme, šarža 1

Vstupná titrácia koncentrácie (BKV DNA IU/ml)	Počet platných replikátov	Počet pozitívnych	Miera úspešnosti v %
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
Det. limit podľa PROBIT pri 95 % pomernej úspešnosti	21,5 IU/ml Interval spoľahlivosti 95 %: 16,3 – 32,4 IU/ml		

Tab. 15 Detekčný limit v EDTA plazme, šarža 2

Vstupná titrácia koncentrácie (BKV DNA IU/ml)	Počet platných replikátov	Počet pozitívnych	Miera úspešnosti v %
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
Det. limit podľa PROBIT pri 95 % pomernej úspešnosti	19,7 IU/ml Interval spoľahlivosti 95 %: 15,0 – 29,2 IU/ml		

Tab. 16 Detekčný limit v EDTA plazme, šarža 3

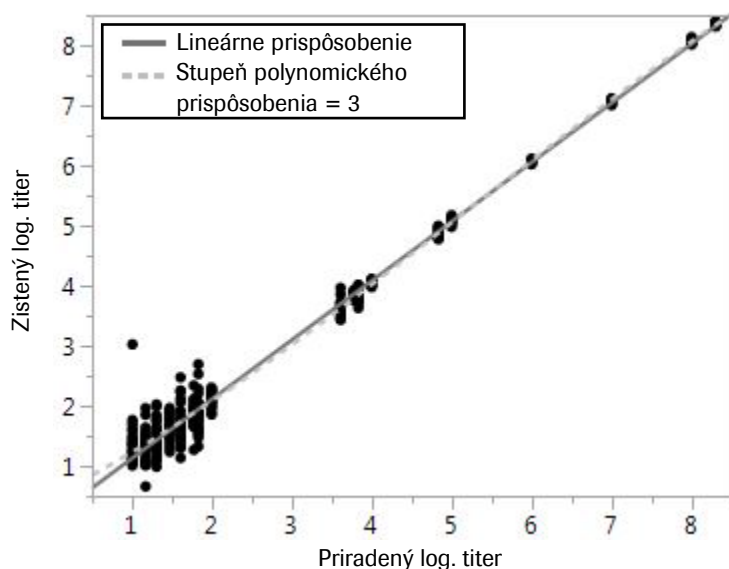
Vstupná titrácia koncentrácie (BKV DNA IU/ml)	Počet platných replikátov	Počet pozitívnych	Miera úspešnosti v %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	50	79,4
4,75	63	35	55,6
2,38	63	22	35,0
0	63	0	0,0
Det. limit podľa PROBIT pri 95 % pomernej úspešnosti	19,3 IU/ml Interval spoľahlivosti 95 %: 14,8 – 28,5 IU/ml		

Lineárny rozsah

Linearita testu **cobas®** BKV bola hodnotená s použitím sérií riedení pozostávajúcich z 18 členov skupiny s BKV podskupiny lb DNA v rozsahu lineárneho rozpätia analýzy. Vysoký titer zásobnej lambda DNA sa použil na prípravu 11 členov panelu v rozsahu celého lineárneho rozpätia. Klinická vzorka sa použila na prípravu 7 členov skupiny na pokrytie stredných a nižších úrovní lineárneho rozsahu.

Každého člena skupiny testovali v 36 replikátoch troma šaržami činidiel **cobas®** BKV a výsledky štúdie sú uvedené na Obr. 5.

cobas® BKV sa ukázal ako lineárny od $1,01\text{E}+01$ do $1,97\text{E}+08$ IU/ml a ukazuje absolútnu odchýlku od lepšie sa hodiacej nelineárnej regresie menšiu alebo rovnú $\pm 0,1 \log_{10}$ v ľudskej EDTA plazme (pozri Obr. 5). V lineárnom rozsahu je presnosť testu v rozmedzí $\pm 0,2 \log_{10}$.

Obr. 5 Určenie lineárneho rozsahu v EDTA plazme

Presnosť – v laboratóriu

Presnosť testu **cobas®** BKV bola určená analýzou sériových riedení s vysokou titráciou BKV DNA (podskupina Ib) v BKV-negatívnej EDTA plazme. Päť úrovní riedenia sa testovalo na 72 replikátoch pre každú úroveň v rámci troch šarží činidiel **cobas®** BKV s použitím štyroch prístrojov a dvoch operátorov počas 12 dní. S každou vzorkou sa vykonala celá procedúra testu **cobas®** BKV na plne automatizovaných systémoch **cobas®** 6800/8800. Tu uvedená presnosť preto predstavuje všetky aspekty testovacieho postupu. Výsledky uvádza Tab. 17.

Test **cobas®** BKV preukázal vysokú presnosť pre tri šarže činidiel analyzovaných v rámci rozsahu koncentrácie $9,83\text{E}+01$ IU/ml až $9,83\text{E}+05$ IU/ml.

Tab. 17 Presnosť testu **cobas®** BKV v rámci laboratória*

Menovitá koncentrácia [IU/ml]	Pridelená koncentrácia [IU/ml]	EDTA plazma			
		Šarža 1	Šarža 2	Šarža 3	Všetky šarže
		SD	SD	SD	Spoločná SD
$1,00\text{E}+06$	$9,83\text{E}+05$	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

* Titračné údaje sa považujú za logaritmicke normálne rozdelené a sú analyzované následne po $\log_{10}$ transformácii. Stĺpce so štandardnými odchýlkami (SD) predstavujú celkový logaritmicke transformovaný titer pre každú z troch šarží činidiel.

Overenie podtypu

Účinnosť testu **cobas**® BKV na BKV podtype I (s podskupinami Ia a Ic), II, III a IV bola hodnotená nasledovne:

- Overením detekčného limitu
- Overením lineárneho rozsahu

Overenie detekčného limitu podtypov I (s podskupinami Ia a Ic), II, III a IV

BKV DNA pre päť rozličných podtypov/podskupín (Ia Ic, II, III a IV) bol zriedený do troch rozličných úrovní koncentrácie v BKV-negatívnej EDTA plazme. Určovanie miery úspešnosti bolo vykonané na 63 replikátoch pre každú úroveň. Testovanie bolo vykonané s tromi šaržami činidiel **cobas**® BKV, viacnásobnými cyklami, počas viacerých dní, viacerými operátormi a prístrojmi. Tieto výsledky dokazujú, že test **cobas**® BKV zistil BKV DNA u piatich rozličných podtypov/podskupín pri koncentrácii 21,5 IU/ml pri miere úspešnosti ≥ 95 %.

Overenie lineárneho rozsahu podtypov I (s podskupinami Ia a Ic), II, III a IV

Série riedení použité pri overení štúdie linearít podtypu/podskupiny testu **cobas**® BKV pozostávali z ôsmich členov skupiny pokrývajúcich lineárne rozpätie analýzy. Testovanie bolo vykonané s tromi šaržami činidla **cobas**® BKV, 12 replikátov na úroveň sa testovalo v EDTA plazme.

Lineárny rozsah testu **cobas**® BKV sa overil pre všetkých päť podtypov/podskupín (Ia, Ic, II, III a IV).

Špecifickosť

Špecifickosť testu **cobas**® BKV sa určila analýzou BKV-negatívnych vzoriek EDTA plazmy od jednotlivých darcov. 104 individuálnych vzoriek EDTA plazmy sa testovalo s tromi šaržami činidiel **cobas**® BKV. Všetky vzorky boli negatívne na BKV DNA. V analýze testu bola špecifickosť testu **cobas**® BKV 100 % (nižší jednostranný 95-percentný interval spoľahlivosti: 97,16 %).

Analytická špecifickosť

Analytická špecifickosť testu **cobas**® BKV sa hodnotila testovaním skupiny mikroorganizmov pri koncentrácii 1,00E+06 jednotiek/ml (CFU/ml, bunky/ml, CCU/ml, IFU/ml) pre baktérie a kvasinky a od 1,00E+05 jednotiek/ml a 1,00E+06 jednotiek/ml (kópie/ml, TCID₅₀/ml, IU/ml, bunky/ml) pre vírusy. Mikroorganizmy sa zriedili do BKV DNA negatívnej ľudskej EDTA plazmy, ako aj do ľudskej EDTA plazmy obsahujúcej (100 IU/ml) BKV DNA. Tieto špecifické analyzované organizmy uvádza Tab. 18. Každá vzorka sa testovala v troch replikátoch. Žiadny z iných patogénov než BKV pri testovaných koncentráciách nerušil výkonnosť testu. Negatívne výsledky sa získali s testom **cobas**® BKV pre všetky vzorky mikroorganizmov bez cieľa BKV a pozitívne výsledky sa získali pre všetky vzorky mikroorganizmov s cieľom BKV. Okrem toho priemerný log₁₀ titer každej z pozitívnych vzoriek BKV obsahujúcich potenciálne krížovo reagujúce organizmy spadal do rozsahu $\pm 0,5$ log₁₀ priemerného log₁₀ titra príslušnej pozitívnej injekčne aplikovanej kontroly.

Tab. 18 Mikroorganizmy testované pre krížovú reaktivitu

Vírusy	Baktérie	Kvasinky
Adenovírus typ 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Cytomegalovírus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Vírus Epstein-Barrovej	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Vírus hepatitídy B	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Vírus hepatitídy C	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Vírus Herpes simplex typu 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Vírus Herpes simplex typu 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Ľudský herpesvírus typu 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Ľudský herpesvírus typu 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Ľudský herpesvírus typu 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Ľudský papillomavírus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
JC Vírus	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovírus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Opičí vírus 40	-	-
Vírus Varicella-zoster	-	-

Analytická špecifickosť – interferujúce látky

Vysoká hladina triglyceridov (33 g/l), konjugovaného bilirubínu (0,2 g/l), nekonjugovaného bilirubínu (0,2 g/l), bielkovín (60 g/l), hemoglobínu (2 g/l) a ľudskej DNA (2 mg/l) vo vzorkách sa testovali v prítomnosti (100 IU/ml) a neprítomnosti BKV DNA. Testované endogénne interferencie sa ukázali ako nerušivé voči efektívnosti testu **cobas® BKV**.

Navyše, zložky liekov, ktoré uvádza Tab. 19, sa testovali trikrát C_{max} na prítomnosť a neprítomnosť BKV DNA.

Všetky potenciálne rušivé látky sa ukázali ako nerušivé voči účinnosti analýzy. Negatívne výsledky sa získali s testom **cobas® BKV** pre všetky vzorky bez cieľa BKV a pozitívne výsledky sa získali pre všetky vzorky s cieľom BKV. Okrem toho priemerný $\log_{10}$ titer každej z pozitívnych vzoriek BKV obsahujúcich potenciálne rušivé látky spadol do rozsahu $\pm 0,5 \log_{10}$ priemerného $\log_{10}$ titra príslušnej pozitívnej injekčne aplikovanej kontroly.

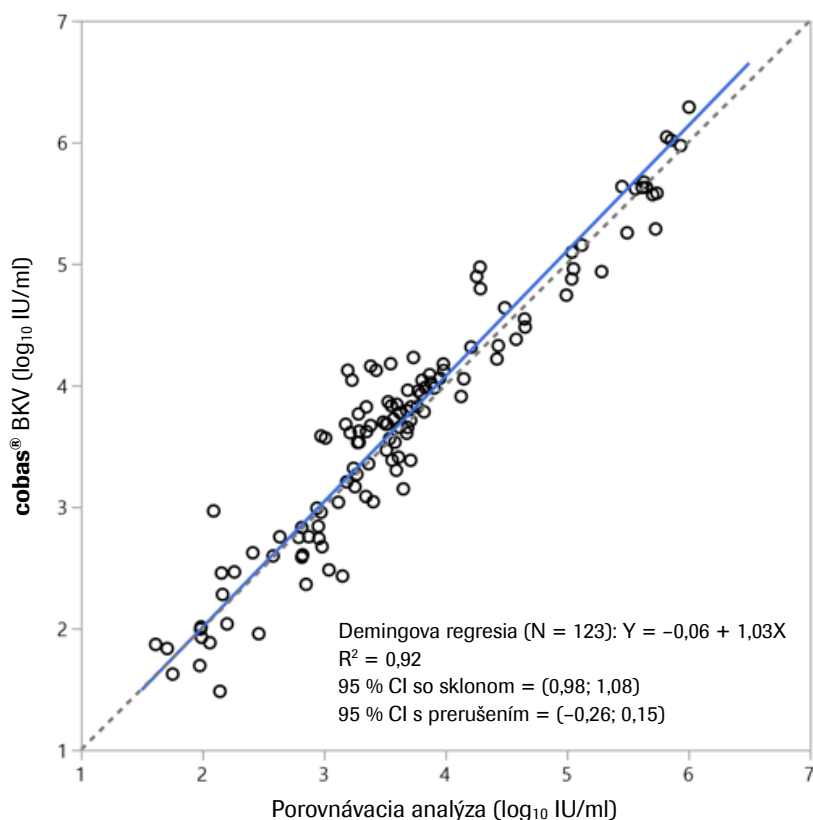
Tab. 19 Zložky liekov testované na rušivosť voči kvantifikácii BKV DNA testom **cobas® BKV**

Trieda lieku	Generický názov lieku	
Antimikrobiálny	Cefotetan	Sulfametoxazol
	Klavulanát draselný	Tikarcilín dvojsodný
	Fluconazole	Trimetoprim
	Piperacillin	Vancomycin
	Tazobactam sodný	Mikafungín
Liečivá na liečbu herpesvírusov	Ganciklovir	Cidofovir
	Valganciklovir	Foscarnet
	Acyklovir	Letermovír
Imunosupresívum	Azatioprín	Prednizón
	Cyklosporín	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Mykofenolát mofetilu	Kyselina mykofenolová

Korelácia metódy

Účinnosť testu **cobas® BKV** sa hodnotila voči porovnávacej analýze testovaním vzoriek EDTA plazmy od BKV infikovaných pacientov. Vzorky EDTA plazmy v rámci kvantifikačného rozsahu oboch analýz sa analyzovali ako jednotlivé replikáty. Bola vykonaná Demingova regresná analýza.

Výsledky Demingovej regresie uvádza Obr. 6.

Obr. 6 Regresná analýza testu **cobas®** BKV verzus porovnávacia analýza

Zlyhanie celého systému

Stupeň zlyhania celého systému pre test **cobas®** BKV sa určil testovaním 100 opakovaní EDTA plazmy zameraným na BKV pozitívnu klinickú vzorku. Tieto vzorky sa testovali pri koncentrácii $3 \times \text{LoD}$.

Výsledky tejto štúdie určili, že všetky replikáty boli platné a pozitívne pre cieľ BKV, dôsledkom čoho bol stupeň zlyhania celého systému 0 % (vrchný jednostranný 95 % interval spoľahlivosti 2,95 %).

Krížová kontaminácia

Stupeň krížovej kontaminácie pre test **cobas®** BKV sa určil testovaním 240 replikátov BKV-negatívnej matice vzoriek a 225 replikátov s vysokou titráciou BKV DNA vo vzorke pri približne $2,00\text{E}+07$ IU/ml. Celkovo sa uskutočnilo 5 analýz s pozitívnymi a negatívnymi vzorkami pri šachovnicovej konfigurácii.

Všetkých 240 replikátov negatívnej vzorky bolo negatívnych, takže pomer krížovej kontaminácie bol 0 % (vrchný jednostranný 95 % interval spoľahlivosti 1,24 %).

Kľúčové ukazovatele účinnosti pre vzorky typu moč použité v systémoch cobas® 6800/8800

Detekčný limit (LoD), medzinárodný štandard WHO

Detekčný limit testu **cobas®** BKV pre medzinárodný štandard WHO bol určený analýzou sériových riedení 1. medzinárodného štandardu WHO BKV získaného z NIBSC (NIBSC 14/212) v BKV negatívnych vzorkách moču stabilizovaného v médiu **cobas®** PCR Media. Skupina šiestich úrovní koncentrácie plus slepá sa testovali na troch šaržiach činidiel **cobas®** BKV, viacnásobnými cyklami, počas viacerých dní, rôznymi operátormi a na viacerých prístrojoch.

Výsledky pre vzorky moču stabilizovaného v médiu **cobas®** PCR Media uvádza Tab. 20 až Tab. 22. Štúdia ukazuje, že pri najmenej citlivej šarži je koncentrácia, pre ktorú PROBIT predpokladá 95-percentnú mieru úspešnosti, 12,2 IU/ml s 95-percentným rozsahom spoľahlivosti od 9,2 do 18,3 IU/ml v čistom moči. Najnižšia koncentrácia s mierou úspešnosti $\geq 95\%$ je 10,0 IU/ml v čistom moči.

Tab. 20 Detekčný limit v moči, šarža 1

Vstupná titrácia koncentrácie (BKV DNA IU/ml)*	Počet platných replikátov	Počet pozitívnych	Miera úspešnosti v %
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
Det. limit podľa PROBIT pri 95 % pomernej úspešnosti	12,2 IU/ml Interval spoľahlivosti 95 %: 9,2 – 18,3 IU/ml		

* Testované vzorky moču stabilizovaného v médiu **cobas®** PCR Media. Vstupná titrácia koncentrácie použitá na výpočet na základe čistého moču.

Tab. 21 Detekčný limit v moči, šarža 2

Vstupná titrácia koncentrácie (BKV DNA IU/ml)*	Počet platných replikátov	Počet pozitívnych	Miera úspešnosti v %
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
Det. limit podľa PROBIT pri 95 % pomernej úspešnosti	11,9 IU/ml Interval spoľahlivosti 95 %: 9,2 – 17,3 IU/ml		

* Testované vzorky moču stabilizovaného v médiu **cobas**® PCR Media. Vstupná titrácia koncentrácie použitá na výpočet na základe čistého moču.

Tab. 22 Detekčný limit v moči, šarža 3

Vstupná titrácia koncentrácie (BKV DNA IU/ml)*	Počet platných replikátov	Počet pozitívnych	Miera úspešnosti v %
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
Det. limit podľa PROBIT pri 95 % pomernej úspešnosti	10,1 IU/ml Interval spoľahlivosti 95 %: 7,8 – 14,7 IU/ml		

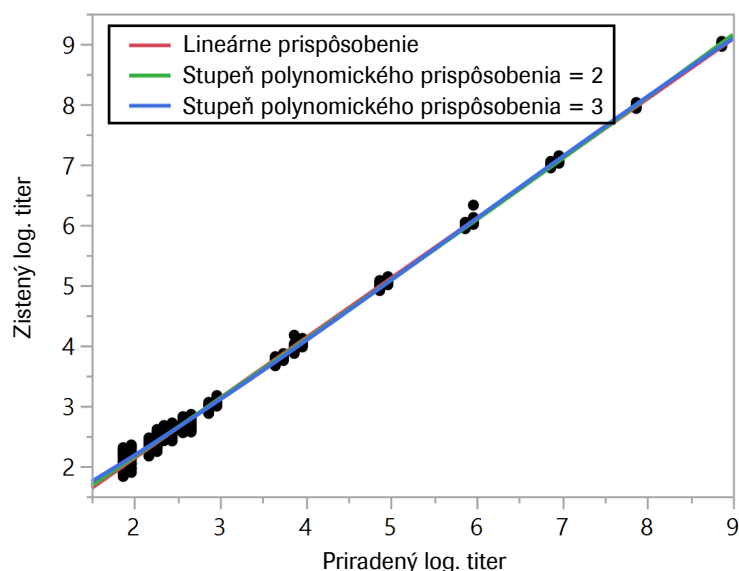
* Testované vzorky moču stabilizovaného v médiu **cobas**® PCR Media. Vstupná titrácia koncentrácie použitá na výpočet na základe čistého moču.

Lineárny rozsah

Linearita testu **cobas**® BKV bola hodnotená s použitím sérií riedení pozostávajúcich z 10 členov s použitím klinickej vzorky (BKV podskupiny lb) v rozsahu lineárneho rozpätia testu. Vysoký titer zásobnej lambda DNA sa použil na prípravu 12 členov panelu v rozsahu celého lineárneho rozpätia.

Každého člena skupiny testovali v 36 replikátoch troma šaržami činidiel **cobas**® BKV a výsledky štúdie sú uvedené na Obr. 7.

Bolo preukázané, že test **cobas**® BKV je lineárny od 7,41E+01 IU/ml do 7,41E+08 IU/ml a vykazuje absolútnu odchýlku od vhodnejšej nelineárnej regresie menšiu alebo rovnajúcu sa $\pm 0,1 \log_{10}$ vo vzorkách moču stabilizovaného v médiu **cobas**® PCR Media (pozrite si Obr. 7). V lineárnom rozsahu je presnosť testu v rozmedzí $\pm 0,2 \log_{10}$.

Obr. 7 Určenie lineárneho rozsahu v moči

Presnosť – v laboratóriu

Presnosť testu **cobas®** BKV bola určená analýzou sériových riedení s vysokou titráciou BKV DNA (podskupina Ib) v BKV-negatívnych vzorkách moču stabilizovaného v médiu **cobas®** PCR Media. Päť úrovní riedení sa testovalo v 72 replikátoch pre každú úroveň v rámci troch šarží činidiel **cobas®** BKV s použitím dvoch prístrojov a dvoch operátorov počas 12 dní. S každou vzorkou sa vykonala celá procedúra testu **cobas®** BKV na plne automatizovaných systémoch **cobas®** 6800/8800. Tu uvedená presnosť preto predstavuje všetky aspekty testovacieho postupu. Výsledky uvádza Tab. 23.

Test **cobas®** BKV preukázal vysokú presnosť pre tri šarže činidiel analyzovaných v rámci rozsahu koncentrácie 7,41E+02 IU/ml až 7,41E+05 IU/ml.

Tab. 23 Presnosť testu **cobas®** BKV v rámci laboratória*

Menovitá koncentrácia [IU/ml]	Pridelená koncentrácia [IU/ml]	Moč stabilizovaný v médiu cobas® PCR Media			
		Šarža 1	Šarža 2	Šarža 3	Všetky šarže
		SD	SD	SD	Spoločná SD
1,00E+06	7,41E+05	0,02	0,02	0,02	0,02
1,00E+05	7,41E+04	0,02	0,03	0,02	0,03
1,00E+04	7,41E+03	0,03	0,03	0,03	0,03
6,00E+03	4,44E+03	0,04	0,03	0,04	0,03
1,00E+03	7,41E+02	0,05	0,05	0,04	0,05

* Titračné údaje sa považujú za logaritmicke normálne rozdelené a sú analyzované následne po $\log_{10}$ transformácii. Stĺpce so štandardnými odchýlkami (SD) predstavujú celkový logaritmicke transformovaný titer pre každú z troch šarží činidiel.

Overenie podtypu

Účinnosť testu **cobas**® BKV na BKV podtype I (s podskupinami Ia a Ic), II, III a IV bola hodnotená nasledovne:

- Overením detekčného limitu
- Overením lineárneho rozsahu

Overenie detekčného limitu podtypov I (s podskupinami Ia a Ic), II, III a IV

BKV DNA pre päť rozličných podtypov/podskupín (Ia, Ic, II, III a IV) bol zriedený do troch rozličných úrovní koncentrácie v BKV-negatívnych vzorkách moču stabilizovaného v médiu **cobas**® PCR Media. Určovanie miery úspešnosti bolo vykonané na 63 replikátoch pre každú úroveň. Testovanie bolo vykonané s troma šaržami činidiel **cobas**® BKV, viacnásobnými cyklami, počas viacerých dní, viacerými operátormi a prístrojmi. Tieto výsledky dokazujú, že test **cobas**® BKV zistil BKV DNA u piatich rozličných podtypov/podskupín pri koncentrácii 12,2 IU/ml pri miere úspešnosti $\geq 95\%$.

Overenie lineárneho rozsahu podtypov I (s podskupinami Ia a Ic), II, III a IV

Série riedení použité pri overení štúdie linearít podtypu/podskupiny testu **cobas**® BKV pozostávali z ôsmich členov skupiny pokrývajúcich lineárne rozpätie analýzy. Testovanie bolo vykonané s troma šaržami činidla **cobas**® BKV, testovalo sa 12 replikátov na každú úroveň v moči stabilizovanom v médiu **cobas**® PCR Media.

Lineárny rozsah testu **cobas**® BKV sa overil pre všetkých päť podtypov/podskupín (Ia, Ic, II, III a IV).

Špecifickosť

Špecifickosť testu **cobas**® BKV sa určila analýzou BKV-negatívnych vzoriek moču stabilizovaného v médiu **cobas**® PCR Media od jednotlivých darcov. Sto individuálnych vzoriek moču sa testovalo s troma šaržami činidiel **cobas**® BKV. Všetky vzorky boli negatívne na BKV DNA. V analýze testu bola špecifickosť testu **cobas**® BKV 100 % (nižší jednostranný 95-percentný interval spoľahlivosti: 97,05 %).

Analytická špecifickosť

Analytická špecifickosť testu **cobas**® BKV sa hodnotila testovaním skupiny mikroorganizmov pri koncentrácii 1,00E+06 jednotiek/ml až 2,00E+06 jednotiek/ml (CFU/ml, bunky/ml, CCU/ml, IFU/ml) pre baktérie a kvasinky a pri 1,00E+05 jednotiek/ml (kópie/ml, TCID₅₀/ml, IU/ml, bunky/ml) pre vírusy. Mikroorganizmy sa zriedili do BKV DNA negatívneho moču ako aj moču obsahujúceho (600 IU/ml) BKV DNA. Tieto špecifické analyzované organizmy uvádza Tab. 24. Každá vzorka sa testovala v troch replikátoch. Žiadny z iných patogénov než BKV pri testovaných koncentráciách nerušil výkonnosť testu. Negatívne výsledky sa získali s testom **cobas**® BKV pre všetky vzorky mikroorganizmov bez cieľa BKV a pozitívne výsledky sa získali pre všetky vzorky mikroorganizmov s cieľom BKV. Okrem toho priemerný log₁₀ titer každej z pozitívnych vzoriek BKV obsahujúcich potenciálne krížovo reagujúce organizmy spadal do rozsahu $\pm 0,5$ log₁₀ priemerného log₁₀ titra príslušnej pozitívnej injekčne aplikovanej kontroly.

Tab. 24 Mikroorganizmy testované pre krížovú reaktivitu

Vírus	Baktérie	Baktérie	Kvasinky
Vírus herpes simplex 2	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Ľudský papillomavírus 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>	-	-

Analytická špecifickosť – interferujúce látky

Zvýšené hladiny albumínu (0,5 % obj. hm.), konjugovaného bilirubínu (1 % obj. hm.), glukózy (1 % obj. hm.), mononukleárných buniek periférnej krvi (1,00E+06 buniek/ml), hlienu (1 hlienový výter na 4,3 ml vzorky), kyslé pH (pH 4), zásadité pH (pH 9), sperma (1 výter ponorený do spermy na 4,3 ml vzorky), sodík (300 mEq/l) a celá krv (10 % v/v) vo vzorkách boli testované na prítomnosť (600 IU/ml) a neprítomnosť BKV DNA. Testované endogénne interferencie sa ukázali ako nerušivé voči efektívnosti testu **cobas®** BKV.

Zložky liekov, ktoré uvádza Tab. 25, boli okrem toho testované na prítomnosť a neprítomnosť BKV DNA.

Všetky potenciálne rušivé látky s výnimkou mastencového prášku sa ukázali ako látky, ktoré účinnosť testu nenarúšajú. Mastencový prášok pri $\leq 0,05$ % nepreukázal žiadne rušenie testu pri teste **cobas®** BKV. Negatívne výsledky sa získali s testom **cobas®** BKV pre všetky vzorky bez cieľa BKV a pozitívne výsledky sa získali pre všetky vzorky s cieľom BKV. Okrem toho priemerný $\log_{10}$ titer každej z pozitívnych vzoriek BKV obsahujúcich potenciálne rušivé látky spadol do rozsahu $\pm 0,5 \log_{10}$ priemerného $\log_{10}$ titra príslušnej pozitívnej injekčne aplikovanej kontroly.

Tab. 25 Zložky liekov testované na rušivosť voči kvantifikácii BKV DNA testom **cobas®** BKV

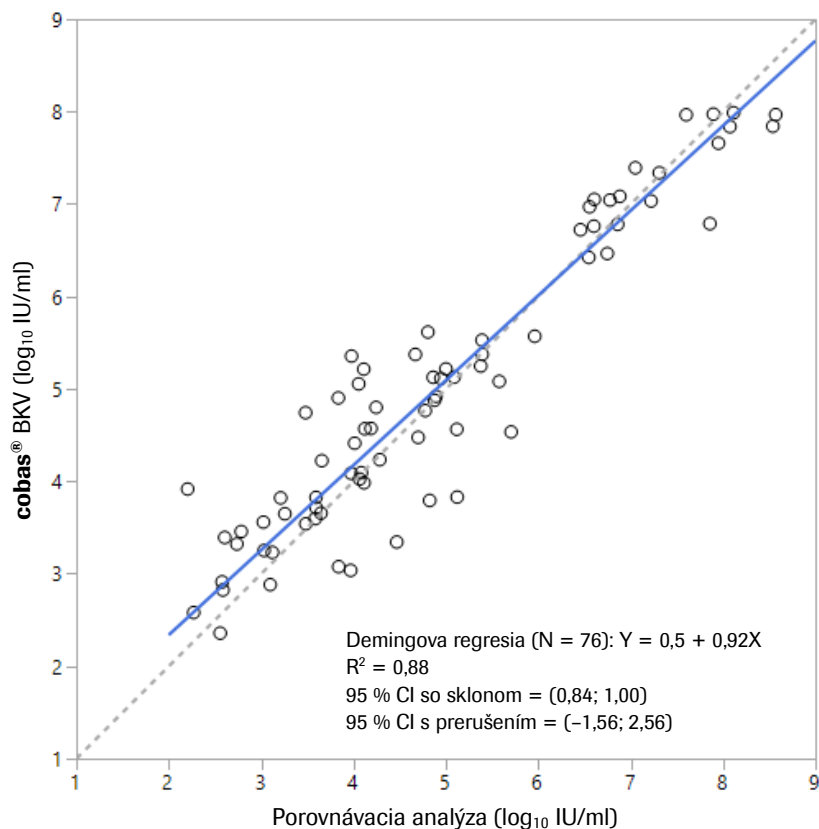
Trieda lieku	Aktívna látka	Koncentrácia	Generický názov lieku
Antimikrobiálny	Clotrimazole	100 µg/ml	Gyne-Lotrimin 7
	Metronidazole	701 µmol/l	Arilin rapid Vaginálne čapíky Vagi Metro Cream Nidazea Gel
Estrogénový steroidný hormón	Estradiol	4,41 nmol/l	Estrace
Analgetiká	Phenazopyridine Hydrochloride	200 µg/ml	Azo Standard
	Acetaminofen	1324 µmol/l	Acetaminofen
Lubrikant	Propylénglykol	1000 µg/ml	K-Y UltraGel
Nesteroidný protizápalový liek	Kyselina acetylsalicylová	3,62 mmol/l	Kyselina acetylsalicylová
	Naproxen	2170 µmol/l	Naproxen
	Ibuprofen	2425 µmol/l	Ibuprofen
Netýka sa	Mastenec	0,05 % (w/v)	Mastencový prášok

Korelácia metódy

Účinnosť testu **cobas®** BKV sa hodnotila voči porovnávacej analýze testovaním vzoriek moču od BKV infikovaných pacientov. Vzorky moču v rámci kvantifikačného rozsahu oboch analýz sa analyzovali ako jednotlivé replikáty. Bola vykonaná Demingova regresná analýza.

Výsledky Demingovej regresie uvádza Obr. 8.

Obr. 8 Regresná analýza testu **cobas®** BKV verzus porovnávacia analýza



Krížová kontaminácia

Stupeň krížovej kontaminácie pre test **cobas®** BKV sa určil testovaním 240 replikátov BKV-negatívnej matice vzoriek a 225 replikátov s vysokou titráciou BKV DNA vo vzorke pri približne $1,00E+09$ IU/ml. Celkovo sa uskutočnilo 5 analýz s pozitívnymi a negatívnymi vzorkami pri šachovnicovej konfigurácii.

Všetkých 240 replikátov negatívnej vzorky bolo negatívnych, takže pomer krížovej kontaminácie bol 0,0 % (vrchný jednostranný 95 % interval spoľahlivosti 1,24 %).

Hodnotenie klinickej účinnosti použité v systémoch cobas® 6800/8800

Reprodukovateľnosť cobas® BKV pre typ vzorky EDTA plazma

Reprodukovateľnosť cobas® BKV sa hodnotila na základe viacerých faktorov (šarža činidla, testovacie pracovisko, dávka a dni testovania), ktoré by mohli mať vplyv na hlásené výsledky počas rutinného klinického testovania. Hodnotenie sa vykonalo na 3 testovacích pracoviskách, použili sa 3 šarže činidla a panel pozitívnych a negatívnych vzoriek s celkovým počtom 270 testov na koncentráciu (bez kontrol). Panely boli vytvorené z EDTA plazmy, ktorá bola BKV VCA IgG negatívna, a boli testované na BKV s protokolom uvoľňovania NAT z plazmy a naočkované medzinárodným štandardom BKV WHO alebo DNA kultivovaného vírusu BKV genotypu Ib (najbežnejší genotyp). Na každom pracovisku testovali dvaja operátori všetky šarže činidla počas 5 dní. Každý deň sa vykonali dva cykly (1 cyklus = 1 dávka, 1 dávka = 1 panel + 3 kontroly) a pre každý cyklus na vytvorili 3 replikáty každého prvku panelu. Prehľad výsledkov hodnotenia uvádza Tab. 26.

Tab. 26 Priraditeľné percento celkovej odchýlky (%TV), štandardnej odchýlky (SD) celkovej presnosti a logaritmickej normálnej hodnoty CV (%) koncentrácie BKV DNA ($\log_{10}$ IU/ml) podľa pozitívnych prvkov panelu

Očakávaná koncentrácia BKV DNA ($\log_{10}$ IU/ml)	Zistená priemerná ^a koncentrácia BKV DNA ($\log_{10}$ IU/ml)	Počet testov ^b	Šarža %TV ^c (CV%) ^d	Lokalita %TV ^c (CV%) ^d	Deň/operátor %TV ^c (CV%) ^d	Dávka %TV ^c (CV%) ^d	V rámci dávky %TV ^c (CV%) ^d	Celková presnosť SD ^e	Celková presnosť logaritmickej normálnej hodnoty CV (%) ^d
1,81	1,74	270	9 % (20,63)	6 % (17,69)	0 % (0,00)	7 % (19,15)	78 % (68,05)	0,304	79,43
3,70	3,52	270	10 % (9,79)	10 % (9,57)	14 % (11,44)	25 % (15,16)	40 % (19,38)	0,131	30,91
4,70	4,51	270	3 % (4,42)	24 % (13,46)	0 % (0,00)	56 % (20,58)	17 % (11,27)	0,118	27,71
5,70	5,54	270	7 % (5,66)	28 % (11,50)	0 % (0,00)	40 % (13,85)	25 % (10,84)	0,094	21,94
7,70	7,62	269	4 % (3,27)	49 % (11,00)	0 % (0,00)	13 % (5,60)	34 % (9,10)	0,068	15,74

^a Vypočítané pomocou postupu SAS MIXED.

^b Počet platných testov s detekovateľnou úrovňou DNA.

^c %TV = percentuálny podiel na celkovej odchýlke.

^d CV% = logaritmickej normálnej hodnoty percentuálneho koeficientu odchýlky = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e Vypočítané pomocou celkovej variability pomocou postupu SAS MIXED.

Poznámka: Tabuľka obsahuje iba výsledky s detekovateľnou úrovňou DNA. SD = štandardná odchýlka. CV = koeficient odchýlky; BKV = BK vírus.

cobas® BKV preukázal prijateľnú klinickú reprodukovateľnosť pri koncentráciách v celom lineárnom rozsahu. Okrem toho systém detekoval 100 % z $3 \times \text{LLOQ}$ vzoriek. Systémy cobas® 6800 a cobas® 8800 majú rovnaký modulárny dizajn a preukázali rovnocennosť pri použití cobas® BKV. Všetky odhadované 95 % limity spoľahlivosti (CL) pre rozdiel medzi 2 meraniami od toho istého subjektu boli v rozmedzí $\pm 0,84 \log_{10}$ IU/ml, čo naznačuje, že analýza môže posúdiť zmeny v úrovniach BKV DNA, ktoré sa považujú za klinicky významné.

Z 270 platných testov pre negatívne prvky panelu vykonaných na systémoch **cobas®** 6800/8800 všetky vzorky vykazovali výsledok „Target Not Detected“, preto negatívna percentuálna zhoda (NPA) bola 100 % s 95 % presnou CI 98,6 % až 100 %.

Účinnosť **cobas®** BKV pre typ vzorky EDTA plazma

Klinická účinnosť **cobas®** BKV bola ďalej hodnotená na troch testovacích pracoviskách meraním úrovni BKV DNA v klinických vzorkách (čistých a zriedených) pacientov infikovaných a neinfikovaných BKV a umelo pripravených vzorkách plazmy EDTA naočkovaných kultivovaným vírusom BKV v porovnaní so spoľahlivo overeným, laboratórne vyvinutým testom nukleových kyselín (LDT) (komparátor BKV LDT). Zo všetkých vzoriek testovaných pomocou **cobas®** BKV a komparačného testu BKV bolo celkovo 550 vzoriek (217 čistých a 303 zriedených klinických vzoriek od 129 subjektov po transplantácii a 30 umelo vytvorených vzoriek), ktoré boli platné v oboch analýzach a ktoré bolo možné vyhodnotiť na analýzu klinickej zhody (Tab. 27).

Tab. 27 Výsledky analýzy zhody medzi **cobas®** BKV a komparátorom LDT pre úroveň BKV DNA pre všetky vzorky

cobas® BKV (log ₁₀ IU/ml)	Komparátor BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) Target Not Detected	Komparátor BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) < LLoQ (< 2,3)	Komparátor BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) 2,3 až < 3,0	Komparátor BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) 3,0 až < 3,7	Komparátor BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) 3,7 – 4,4	Komparátor BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) > 4,4	Cel- kom
Target Not Detected	107	7	5	0	0	0	119
< LLoQ (< 2,3)	23	51	39	0	0	0	113
2,3 až < 3,0	0	3	40	62	1	0	106
3,0 až < 3,7	0	0	1	71	42	0	114
3,7 – 4,4	0	0	0	0	26	26	52
> 4,4	0	0	0	0	1	45	46
Celkom	130	61	85	133	70	71	550
Zhoda stĺpca (%)	(130/130) 100,0 %	(61/61) 100,0 %	(80/85) 94,1 %	(133/133) 100,0 %	(69/70) 98,6 %	(71/71) 100,0 %	-
(95 % skóre CI) ^a	(97,1 %, 100 %)	(94,1 %, 100,0 %)	(87,0 %, 97,5 %)	(97,2 %, 100,0 %)	(92,3 %, 99,7 %)	(94,9 %, 100,0 %)	-

Poznámka: CI = interval spoľahlivosti, LLoQ = dolný limit kvantifikácie komparátora BKV LDT (200 IU/ml = 2,3 log₁₀ IU/ml). Štandardná odchýlka komparátora BKV LDT odhadnutá na 0,37 log₁₀ IU/ml (podľa štúdie analytickej presnosti BKV LDT vykonanej na Indiana University). Koncentrácia analytu 3,0 log₁₀ IU/ml reprezentovaná LLoQ + 2σ, 3,7 log₁₀ IU/ml reprezentovaná LLoQ + 4σ a 4,4 log₁₀ IU/ml reprezentovaná LLoQ + 6σ s intervalom rozsahu 2σ. V tejto tabuľke boli zahrnuté spárované vzorky, ktoré bolo možné hodnotiť na analýzu klinickej zhody.

^a Predpokladaná nezávislosť medzi všetkými vzorkami.

Nezhodné výsledky boli definované ako také, ktoré sú od uhlopriečky vzdialené viac ako jedno políčko (označené tieňovaním). Pre stĺpec „Target Not Detected (TND) by LDT Column Agreement“ sa spojili bunky **cobas®** BKV „Target Not Detected“ a „< LLoQ (< 2,3)“. Dôvodom pridania susedných buniek < LLoQ a TND do stĺpca TND je, že rozdiel medzi TND a < LLoQ nie je klinicky významný a že sú analyticky na spodnej hranici pásma merania, ktoré môže byť ovplyvnené náhodnou chybou.

Zo 43 BKV DNA-negatívnych vzoriek odobratých na odhadnutie NPA pri použití **cobas®** BKV bolo všetkých 43 vzoriek negatívnych pri použití **cobas®** BKV, takže NPA bola 100 % s 95 % presnou CI 91,8 % až 100 %.

Zhoda medzi **cobas**® BKV a komparátorom BKV LDT bola tiež hodnotená pomocou rôznych klinických prahových hodnôt (Tab. 28).

Tab. 28 Súhrn zhody **cobas**® BKV a komparátora BKV LDT s použitím rôznych prahových hodnôt pre všetky vzorky

Prahové hodnoty*	Percentuálna zhoda < prahová hodnota	Percentuálna zhoda ≥ prahová hodnota
	95 % CI (n/N)	95 % CI (n/N)
Target Not Detected	82,3 % (107/130) (74,8 %, 87,9 %)	97,1 % (408/420) (95,1 %, 98,4 %)
LLOQ (2,3 log ₁₀ IU/ml)	98,4 % (188/191) (95,5 %, 99,5 %)	87,7 % (315/359) (83,9 %, 90,7 %)
3,0 log ₁₀ IU/ml	99,6 % (275/276) (98,0 %, 99,9 %)	77,0 % (211/274) (71,7 %, 81,6 %)
4,0 log ₁₀ IU/ml	100,0 % (447/447) (99,1 %, 100,0 %)	67,0 % (69/103) (57,4 %, 75,3 %)

Poznámka: Vzorky s Target Not Detected boli kategorizované ako < prahová hodnota v IU/ml.

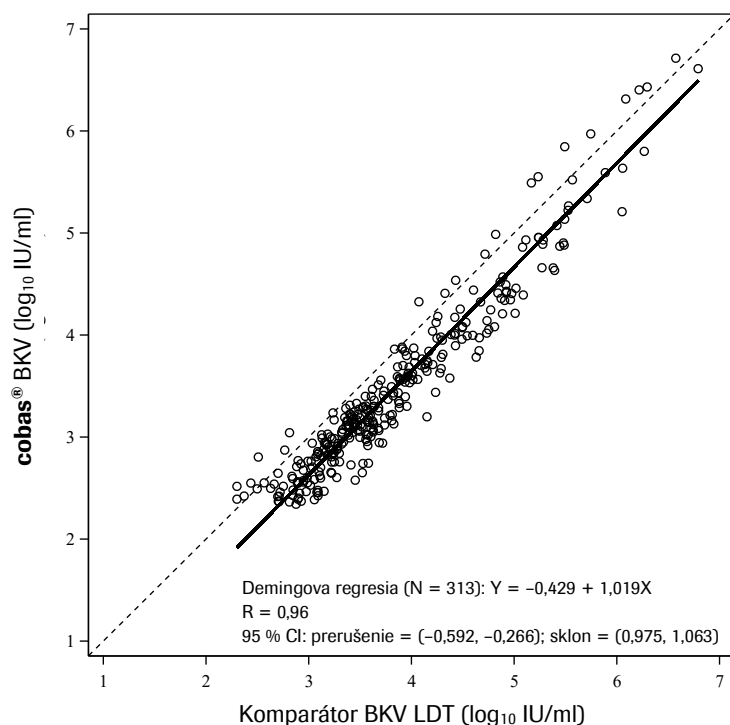
LLOQ = dolný limit kvantifikácie komparátora BKV LDT (200 IU/ml = 2,3 log₁₀ IU/ml).

95 % interval spoľahlivosti (CI) vypočítaný metódou skóre za predpokladu nezávislosti medzi všetkými vzorkami.

* Prahové hodnoty 1 000 IU/ml = 3,0 log₁₀ IU/ml a 10 000 IU/ml = 4,0 log₁₀ IU/ml.

Zo všetkých vzoriek testovaných pomocou **cobas**® BKV, ktoré boli BKV pozitívne použitím komparačného testu BKV, bolo celkovo 313 (133 čistých a 159 zriedených klinických vzoriek od 68 subjektov po transplantácii a 21 umelo vytvorených vzoriek), ktoré bolo možné vyhodnotiť na analýzu korelácie na troch testovacích pracoviskách (Obr. 9).

Obr. 9 Korelácia medzi **cobas**® BKV a komparátorom BKV LDT pre všetky vzorky: Demingov graf lineárnej regresie úrovne DNA (log₁₀ IU/ml)



Dodatočná analýza grafu odchýlky úrovne DNA ukázala systematický rozdiel medzi oboma analýzami, ktorý je konštantný v prekrývajúcim sa lineárnom rozsahu. 95 % CI prerušenia preloženej čiary v grafoch odchýlky bola –0,404 až –0,168, čo je v rozmedzí $\pm 0,74 \log_{10}$ IU/ml (± 2 -násobok štandardnej odchýlky analytickej presnosti komparátora BKV LDT). Okrem toho sa priemerná odchýlka odhadla na $-0,357 \log_{10}$ IU/ml a pri použití preloženej čiary v grafoch odchýlky bol systematický rozdiel medzi oboma analýzami $-0,343 \log_{10}$ IU/ml a $-0,362 \log_{10}$ IU/ml pre vzorky s úrovňami DNA 3 a 4 $\log_{10}$ IU/ml, v tomto poradí.

Reprodukovateľnosť cobas® BKV pre typ vzorky stabilizovaný moč

Reprodukovateľnosť cobas® BKV sa hodnotila na základe viacerých faktorov (šarža činidla, testovacie pracovisko, dávka a dni testovania), ktoré by mohli mať vplyv na hlásené výsledky počas rutinného klinického testovania. Hodnotenie sa vykonalo na 3 testovacích pracoviskách, použili sa 3 šarže činidla a panel pozitívnych a negatívnych vzoriek s celkovým počtom 270 testov na koncentráciu (bez kontrol). Panely boli vytvorené z moču stabilizovaného pomocou média cobas® PCR Media, ktoré bolo potvrdené ako negatívne na BKV DNA pomocou protokolu uvoľňovania testu nukleových kyselín v moči (NAT) a naočkované medzinárodným štandardom BKV WHO alebo DNA kultivovaného vírusu BKV genotypu Ia. Na každom pracovisku testovali dvaja operátori všetky šarže činidla počas 5 dní. Každý deň sa vykonali dva cykly (1 cyklus = 1 dávka, 1 dávka = 1 panel + 3 kontroly) a pre každý cyklus na vytvorili 3 replikáty každého prvku panela. Prehľad výsledkov hodnotenia uvádza Tab. 29.

Tab. 29 Priraditeľné percento celkovej odchýlky (%TV), štandardnej odchýlky (SD) celkovej presnosti a logaritmickej normálnej hodnoty CV (%) koncentrácie BKV DNA ($\log_{10}$ IU/ml) podľa pozitívnych prvkov panelu (stabilizovaný moč)

Očakávaná koncentrácia BKV DNA	Zistená priemerná ^a koncentrácia BKV DNA	Počet testov ^b	Šarža %TV ^c (CV%) ^d	Lokalita %TV ^c (CV%) ^d	Deň/operátor %TV ^c (CV%) ^d	Dávka %TV ^c (CV%) ^d	V rámci dávky %TV ^c (CV%) ^d	Celková presnosť SD ^e	Celková presnosť CV (%) ^d
2,78	2,92	270	59 % (12,64)	0 % (1,15)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	40 % (10,41)	0,071	16,47
3,70	3,78	270	47 % (8,14)	2 % (1,62)	8 % (3,31)	0 % (0,00)	43 % (7,72)	0,051	11,83
4,70	4,80	270	38 % (5,02)	2 % (1,28)	6 % (2,07)	0 % (0,00)	53 % (5,96)	0,035	8,17
5,70	5,70	270	21 % (3,12)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	79 % (6,12)	0,030	6,87
7,70	7,69	270	2 % (1,51)	19 % (4,84)	6 % (2,79)	0 % (0,00)	73 % (9,53)	0,048	11,17

Poznámka: Tabuľka obsahuje iba výsledky s detekovateľnou úrovňou DNA. SD = štandardná odchýlka, CV = percentuálny koeficient odchýlky, BKV = BK vírus.

^a Vypočítané pomocou postupu SAS MIXED.

^b Počet platných testov s detekovateľnou úrovňou DNA.

^c %TV = percentuálny podiel na celkovej odchýlke.

^d CV% = logaritmickej normálna hodnota percentuálneho koeficientu odchýlky = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e Vypočítané pomocou celkovej variability pomocou postupu SAS MIXED.

cobas® BKV preukázal prijateľnú klinickú reprodukovateľnosť pri koncentráciách v celom lineárnom rozsahu. Okrem toho systém detekoval 100 % z $3 \times \text{LLoQ}$ vzoriek. Systémy cobas® 6800 a cobas® 8800 majú rovnaký modulárny dizajn a preukázali rovnocennosť pri použití cobas® BKV. Všetky odhadované 95 % limity spoľahlivosti (CL) pre rozdiel medzi 2 meraniami od toho istého subjektu boli v rozmedzí $\pm 0,20 \log_{10}$ IU/ml, čo naznačuje, že analýza môže posúdiť zmeny

v úrovniach BKV DNA, ktoré sa považujú za klinicky významné. Systém preukázal 99,26 % zhodu negatívnych výsledkov s CI v rozsahu od 97,3 % do 99,9 %. Z 270 platných testov pre negatívne prvky panelu vykazovali 2 vzorky (0,74 %) úroveň DNA < LLoQ pozitivitu. Ďalšie skúmanie týchto výsledkov ukázalo, že nesúviseli s konkrétnym prístrojom/pracoviskom alebo šaržou činidla. Ďalšie sekvenovanie DNA potvrdilo prítomnosť BKV. Identifikované sekvencie BKV sa líšili od sekvencií pozitívnej kontroly a kmeňa BKV použitého na prípravu panelu, s vylúčením kontaminácie počas prípravy panelu a s naznačením stopovej virúrie v jednej z 25 vzoriek moču zo zmiešanej vzorky moču, ktorá sa použila na prípravu negatívneho panelu.

Účinnosť cobas® BKV pre typ vzorky stabilizovaný moč

Klinická účinnosť cobas® BKV bola ďalej hodnotená na troch testovacích pracoviskách meraním úrovni BKV DNA v klinických vzorkách moču pacientov infikovaných a neinfikovaných BKV, ktoré boli stabilizované v médiu cobas® PCR Media v porovnaní so spoľahlivo overeným (LDT) (komparátor BKV LDT).

Zo všetkých vzoriek testovaných pomocou cobas® BKV a komparačného testu BKV bolo celkovo 308 vzoriek čistého moču stabilizovaného v médiu cobas® PCR Media od 84 pacientov po transplantácii, ktoré boli platné v oboch analýzách a ktoré bolo možné vyhodnotiť na analýzu klinickej zhody (Tab. 30).

Tab. 30 Výsledky analýzy zhody medzi cobas® BKV a komparátorom LDT pre úroveň BKV DNA ($\log_{10}$ IU/ml) pre všetky vzorky (stabilizovaný moč)

cobas® BKV ($\log_{10}$ IU/ml)	Komparátor BKV LDT Target Not Detected	Komparátor BKV LDT < LLoQ (< 3,0)	Komparátor BKV LDT 3,0 až < 3,3	Komparátor BKV LDT 3,3 až < 3,6	Komparátor BKV LDT 3,6 – 3,9	Komparátor BKV LDT > 3,9	Celkom
Target Not Detected	62	6	0	0	0	0	68
< LLoQ (< 3,0)	4	22	0	0	0	1	27
3,0 až < 3,3	0	2	0	0	0	0	2
3,3 až < 3,6	0	0	6	3	0	0	9
3,6 – 3,9	0	0	2	11	10	0	23
> 3,9	0	0	0	2	8	169	179
Celkom	66	30	8	16	18	170	308
Zhoda stĺpca (%)	(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 % skóre CI) ^a	(94,5 %, 100,0 %)	(88,6 %, 100,0 %)	(40,9 %, 92,9 %)	(64,0 %, 96,5 %)	(82,4 %, 100,0 %)	(96,7 %, 99,9 %)	-

Poznámka: CI = interval spoľahlivosti, LLoQ = dolný limit kvantifikácie komparátora BKV LDT (1000 IU/ml = 3,0 $\log_{10}$ IU/ml), LDT = laboratórne vyvinutý test, BKV = BK vírus.

Štandardná odchýlka komparátora BKV LDT odhadnutá na 0,15 $\log_{10}$ IU/ml (štúdia analytickej presnosti BKV LDT).

Koncentrácia analytu 3,3 $\log_{10}$ IU/ml reprezentovaná LLoQ + 2 σ , 3,6 $\log_{10}$ IU/ml reprezentovaná LLoQ + 4 σ a 3,9 $\log_{10}$ IU/ml reprezentovaná LLoQ + 6 σ s intervalom rozsahu 2 σ .

V tejto tabuľke boli zahrnuté spárované vzorky, ktoré bolo možné hodnotiť na analýzu klinickej zhody.

^a Predpokladaná nezávislosť medzi všetkými vzorkami.

Sekvenovanie DNA na reprezentatívnych vzorkách od subjektov s výsledkami konzistentne posunutými o viac ako $1 \log_{10}$ IU/ml úrovne DNA neodhalilo žiadne sekvenčné nezhody pre žiadny primér alebo cieľ sondy pre cobas® BKV. Nezhodné výsledky boli definované ako také, ktoré sú od uhlopriečky vzdialené viac ako jedno políčko (označené tieňovaním). Pre stĺpec „Target Not Detected (TND) by LDT Column Agreement“ sa spojili bunky cobas® BKV „Target Not Detected“ a „< LLoQ (< 3,0)“. Dôvodom pridania susedných buniek < LLoQ a TND do stĺpca TND je, že rozdiel medzi TND a < LLoQ nie je klinicky významný a že sú analyticky na spodnej hranici pásma merania, ktoré môže byť ovplyvnené náhodnou chybou. Zo 66 BKV DNA negatívnych vzoriek odobratých na odhad NPA pri použití cobas® BKV malo 61 vzoriek platné výsledky, všetkých 61 vzoriek bolo negatívnych pri použití cobas® BKV, takže NPA bola 100 % s 95 % presnou CI 94,1 % až 100 %.

Zhoda medzi cobas® BKV a komparátorom BKV LDT bola tiež hodnotená pomocou rôznych klinických prahových hodnôt (Tab. 31).

Tab. 31 Súhrn zhody cobas® BKV a komparátora BKV LDT s použitím rôznych prahových hodnôt pre všetky vzorky (stabilizovaný moč)

Prahová hodnota*	Percentuálna zhoda < prahová hodnota 95 % CI (n/N)	Percentuálna zhoda ≥ prahová hodnota 95 % CI (n/N)
Target Not Detected	93,9 % (62/66) (85,4 %, 97,6 %)	97,5 % (236/242) (94,7 %, 98,9 %)
LLoQ (3,0 $\log_{10}$ IU/ml)	97,9 % (94/96) (92,7 %, 99,4 %)	99,5 % (211/212) (97,4 %, 99,9 %)
4,0 $\log_{10}$ IU/ml	90,9 % (130/143) (85,1 %, 94,6 %)	99,4 % (164/165) (96,6 %, 99,9 %)
7,0 $\log_{10}$ IU/ml	97,2 % (242/249) (94,3 %, 98,6 %)	94,9 % (56/59) (86,1 %, 98,3 %)

Poznámka: Vzorky s Target Not Detected boli kategorizované ako < prahová hodnota v IU/ml.

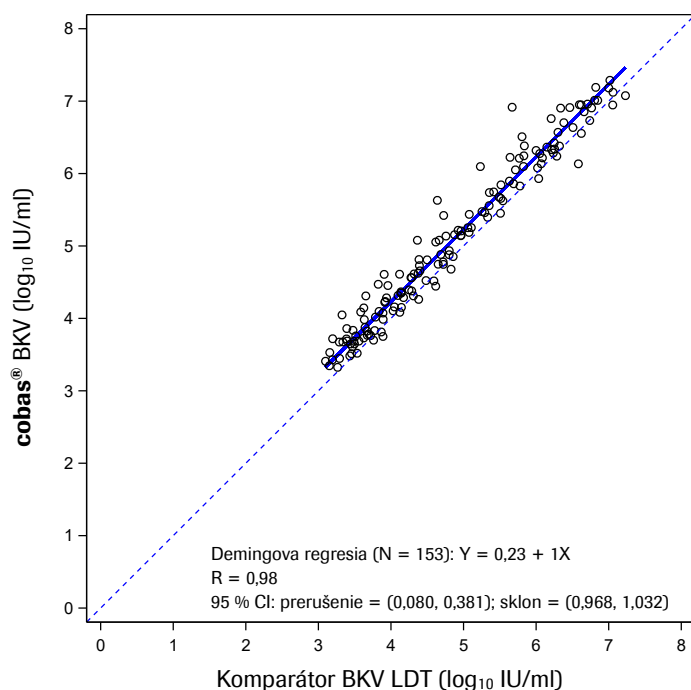
LLoQ = dolný limit kvantifikácie komparátora BKV LDT (1000 IU/ml = 3,0 $\log_{10}$ IU/ml).

95 % interval spoľahlivosti (CI) vypočítaný metódou skóre za predpokladu nezávislosti medzi všetkými vzorkami.

* Prahové hodnoty 10 000 IU/ml = 4,0 $\log_{10}$ IU/ml a 10 000 000 IU/ml = 7,0 $\log_{10}$ IU/ml.

Zo všetkých vzoriek testovaných pomocou cobas® BKV, ktoré boli BKV pozitívne použitím komparačného testu BKV, bolo celkovo 153 vzoriek čistého moču stabilizovaného v médiu cobas® PCR Media od 55 pacientov po transplantácii, ktoré bolo možné vyhodnotiť na analýzu korelácie na troch testovacích pracoviskách (Obr. 10).

Obr. 10 Korelácia medzi **cobas®** BKV a komparátorom BKV LDT pre všetky vzorky: Demingov graf lineárnej regresie úrovne DNA ($\log_{10}$ IU/ml) (stabilizovaný moč)



Dodatočná analýza grafu odchýlky úrovne DNA ukázala systematický rozdiel medzi oboma analýzami, ktorý je konštantný v prekrývajúcim sa lineárnom rozsahu. 95 % CI prerušenia preloženej čiary v grafoch odchýlky bola 0,168 až 0,488, čo je v rozmedzí $\pm 0,5 \log_{10}$ IU/ml. Okrem toho sa priemerná odchýlka odhadla na 0,231 $\log_{10}$ IU/ml a pri použití rovnice preloženej čiary v oboch grafoch odchýlky bol systematický rozdiel medzi oboma analýzami 0,248 $\log_{10}$ IU/ml a 0,188 $\log_{10}$ IU/ml pre vzorky s úrovňami DNA 4 a 7 $\log_{10}$ IU/ml, v tomto poradí.

Ekvivalencia systémov/porovnanie systémov

Ekvivalencia systémov **cobas®** 5800, **cobas®** 6800 a **cobas®** 8800 sa preukázala prostredníctvom štúdií na vyhodnotenie účinnosti. Výsledky uvedené v návode na použitie podporujú ekvivalentnú účinnosť pre všetky systémy.

Ďalšie informácie

Kľúčové funkcie testu

Typ vzorky	EDTA plazma	Moč stabilizovaný v médiu cobas® PCR Media
Minimálne požadované množstvo vzorky	350 µl*	550 µl*
Vstupný objem vzorky	200 µl	400 µl
Analytická citlivosť	21,5 IU/ml (obojsmerný interval spoľahlivosti 95 %: 16,3 – 32,4 IU/ml)	12,2 IU/ml (obojsmerný interval spoľahlivosti 95 %: 9,2 – 18,3 IU/ml)
Lineárny rozsah	21,5 IU/ml až 1E+08 IU/ml	200 IU/ml až 1E+08 IU/ml
Špecifickosť	100 %	100 %
Zistené subtypy	BKV subtypy I (s podskupinami Ia, Ib a Ic), II, III, IV	

* Mŕtvy objem 150 µl identifikovaný pre sekundárne skúmavky **cobas® omni**. Iné skúmavky použité pre testovanie môžu mať odlišný mŕtvy objem a môžu vyžadovať väčší či menší minimálny objem. Ďalšie informácie vám poskytne miestny servis spoločnosti Roche.

Symboly

Na označenie diagnostických produktov Roche PCR sa používajú nasledujúce symboly.

Tab. 32 Symboly používané na označenie diagnostických produktov Roche PCR

Age/DOB Vek alebo dátum narodenia	Pomôcka nie je určená na testovanie v blízkosti pacienta	QS IU/PCR Počet medzinárodných jednotiek QS na PCR; na výpočet výsledkov použite počet medzinárodných jednotiek QS na PCR.
Prídavný softvér	Pomôcka nie je určená na samotestovanie	SN Sériové číslo
Assigned Range [copies/mL] Priradený rozsah (kópie/ml)	Distribútor (Poznámka: Pod symbolom sa môže uviesť príslušná krajina/oblasť.)	Site Lokalita
Assigned Range [IU/mL] Priradený rozsah (IU/ml)	Nepoužívajte opakované	Procedure Standard Štandardná procedúra
EC REP Autorizované zastúpenie v Európskom spoločenstve	Žena	STERILE EO Sterilizované etylénoxidom
BARCODE Dátový list s čiarovým kódom	Určené len na hodnotenie účinnosti IVD	Skladovať v tmavom prostredí
LOT Číslo šarže	GTIN Globálne číslo obchodnej jednotky	Teplotné rozmedzie od do
Biologické riziká	Dovožca	Testovací definičný súbor
REF Katalógové číslo	IVD Diagnostická zdravotnícka pomôcka <i>in vitro</i>	Týmto smerom hore
Označenie súladu s normami CE: toto zariadenie spĺňa príslušné požiadavky na označenie CE ako diagnostické zdravotnícke zariadenie <i>in vitro</i> .	LLR Dolný limit stanoveného rozsahu	Procedure UltraSensitive Ultracitlivá procedúra
Collect Date Dátum odberu	Muž	UDI Jedinečná identifikácia pomôcky
Prečítajte si návod na použitie	Výrobca	ULR Horný limit stanoveného rozsahu
Obsah postačuje na <n> testov	CONTROL - Negatívna kontrola	Urine Fill Line Čiara naplnenia močom
CONTENT Obsah súpravy	Nesterilné	Rx Only Len pre USA: federálny zákon obmedzuje predaj tejto pomôcky lekárom alebo na základe jeho predpisu.
CONTROL Kontrola	Meno pacienta	Dátum spotreby
Dátum výroby	Číslo pacienta	
Pomôcka na testovanie v blízkosti pacienta	Tu stiahnite	
Pomôcka na samotestovanie	CONTROL + Pozitívna kontrola	
	QS copies / PCR Počet QS kópií na PCR reakciu, použite počet QS kópií na PCR reakciu na výpočet výsledkov.	

Technická podpora

Ak potrebujete technickú podporu (pomoc), obráťte sa na miestne zastúpenie:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Výrobca a dovozca

Tab. 33 Výrobca a dovozca



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

Vyrobené v USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Ochranné známky a patenty

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

Autorské práva

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referenčné materiály

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

Revízia dokumentu

Informácie o revízii dokumentu	
Doc Rev. 2.0 09/2022	Predná strana, tabuľka 2 a tabuľka 3 aktualizované o dodatočné čísla dielov súprav kontrol. Aktualizovaná časť Ochranné známky a patenty vrátane odkazu. V prípade akýchkoľvek otázok sa obráťte na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.
Doc Rev. 3.0 05/2023	Vrátenie minimálneho objemu vzorky na pôvodnú úroveň v Návode na použitie a časti Kľúčové funkcie testu. Aktualizované vyhlásenie kompetentného orgánu. Do tabuľky 20 sa doplnila chýbajúca poznámka pod čiarou. Drobné opravy textu. Aktualizované označenie cobas®. V prípade akýchkoľvek otázok sa obráťte na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Súhrn hlásení týkajúcich sa bezpečnosti a účinnosti môžete nájsť pomocou nasledovného odkazu:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.