

cobas[®] **BKV**

Test quantitatif des acides nucléiques à utiliser avec les cobas[®] 6800/8800 Systems

Destiné au diagnostic in vitro

cobas[®] BKV	P/N: 08688249190
cobas[®] EBV/BKV Control Kit	P/N: 08688214190
cobas[®] Buffer Negative Control Kit	P/N: 07002238190

Table des matières

Usage prévu	4
Résumé et explication du test.....	4
Réactifs et matériel.....	7
Réactifs et contrôles cobas® BKV	7
Réactifs cobas omni pour préparation des échantillons	10
Conditions de manipulation et de stockage des réactifs	11
Matériel supplémentaire nécessaire.....	12
Instruments et logiciels nécessaires	12
Précautions et conditions de manipulation	13
Avertissements et précautions	13
Manipulation des réactifs.....	13
Bonnes pratiques de laboratoire	14
Prélèvement, transport et conservation des échantillons	14
Échantillons.....	14
Instructions d'utilisation.....	16
Notes de procédure.....	16
Exécution du test cobas® BKV	16
Résultats.....	17
Contrôle qualité et validité des résultats	17
Interprétation des résultats.....	18
Limites du test	18

Évaluation des performances non cliniques	19
Caractéristiques clés des performances.....	19
Limite de détection (LoD) pour le standard international de l'OMS	19
Domaine de linéarité.....	20
Précision intra-laboratoire.....	21
Vérification de sous-type	21
Spécificité.....	22
Spécificité analytique.....	22
Spécificité analytique - substances interférentes	23
Corrélation de la méthode	23
Échec complet du système	24
Contamination croisée	24
Informations supplémentaires	25
Caractéristiques clés du test.....	25
Symboles	26
Fabricant et distributeurs.....	27
Marques commerciales et brevets	27
Copyright.....	27
Références.....	28
Révision du document.....	29

Usage prévu

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

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

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

Résumé et explication du test

Contexte

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

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

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

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

Pour les patients receveurs de greffe rénal présentant une élévation persistante de la charge virale plasmatique du BKV, souvent définie comme une mesure supérieure à 10 000 copies/mL, l'analyse du BKV dans le plasma est recommandée toutes les 1 à 2 semaines jusqu'à ce que la charge virale retourne à un niveau indétectable pour deux mesures consécutives.

De nombreux tests de laboratoire pour le dosage quantitatif du BKV ne sont pas standardisés, ce qui entraîne une variabilité inter-laboratoire et inter-analyse élevée.^{6,7} Une évaluation formelle de la reproductibilité et de la validité de la charge virale du BKV est essentielle pour assurer des résultats cohérents (quel que soit le laboratoire dans lequel l'analyse a été réalisée) pour le traitement clinique des patients présentant des maladies liées au BKV.

Bien que le seuil viral exact médicalement pertinent soit toujours sujet à débat en raison de la variabilité inter-analyse, le concept de seuil critique semble valide et a été rapporté dans des études de l'histoire naturelle démontrant que les valeurs élevées de charge virale du BKV sont associées à un risque accru de développement de NPV et de CH.^{6,7}

Pourquoi employer les tests d'amplification génétique ?

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

Explication du test

Le test **cobas**® BKV est un test quantitatif exécuté sur le **cobas**® 6800 System et le **cobas**® 8800 System. Le test **cobas**® BKV permet la détection et la quantification de l'ADN du BKV dans le plasma EDTA de patients infectés. La charge virale est quantifiée par rapport à un standard de quantification d'ADN non-BKV (QS-ADN), qui est introduit dans chaque échantillon lors du traitement des échantillons. Le QS-ADN permet également de surveiller l'ensemble du processus de préparation des échantillons et d'amplification par PCR. En outre, le test utilise trois contrôles : un contrôle positif de titre élevé, un contrôle positif de titre faible et un contrôle négatif.

Principes de la procédure

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

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

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible dans l'échantillon est effectuée à l'aide d'une approche double-cible spécifique au virus dans des régions hautement conservées du BKV, situées dans la région de l'antigène petit t du BKV et dans la région VP2 du BKV. L'amplification sélective du QS-ADN est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques à la séquence, sélectionnées de manière à ne présenter aucune homologie avec le génome du BKV. Une enzyme ADN polymérase thermostable est utilisée pour l'amplification. Les séquences cibles et QS-ADN sont amplifiées simultanément à l'aide d'un profil d'amplification par PCR universel composé de paliers de température et d'un nombre de cycles prédéfinis. Le master mix comprend de la désoxyuridine triphosphate (dUTP) à la place de la désoxythymidine triphosphate (dTTP), laquelle est incorporée dans l'ADN nouvellement synthétisé (amplicon).⁸⁻¹⁰ Tout amplicon contaminant provenant de runs de PCR précédents est éliminé par l'enzyme AmpErase incluse dans le mélange de PCR, lorsqu'il est chauffé au cours de la première étape de thermocyclage. Toutefois, les amplicons nouvellement formés ne sont pas éliminés car l'enzyme AmpErase est désactivée une fois exposée à une température supérieure à 55 °C.

Le master mix de **cobas**® BKV contient deux sondes de détection spécifiques aux séquences cibles de BKV et une sonde spécifique au QS-ADN. Les sondes sont marquées au moyen de fluorophores rapporteurs spécifiques des cibles permettant la détection simultanée de cible de BKV et de QS-ADN dans deux canaux cibles différents.^{11,12} Le signal fluorescent des sondes intactes est supprimé par le fluorophore quencher. Lors de l'étape d'amplification par PCR, l'hybridation de la sonde aux matrices d'ADN monocaténaire spécifiques entraîne un clivage par l'activité nucléase 5' à 3' de l'ADN polymérase, ce qui conduit à une séparation du fluorophore rapporteur et du fluorophore quencher et à la génération d'un signal fluorescent. À chaque cycle PCR, des quantités croissantes de sondes clivées sont générées et le signal cumulatif du fluorophore rapporteur est intensifié simultanément. La détection et la discrimination en temps réel des produits PCR sont effectuées en mesurant la fluorescence des fluorophores rapporteurs libérés pour les cibles virales et le QS-ADN.

Réactifs et matériel





Réactifs et contrôles cobas® BKV

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

Tableau 1 cobas® BKV

cobas® BKV Conserver à 2-8 °C Cassette de 192 tests (P/N 08688249190)		
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit 192 tests
Solution de protéinase (PASE)	Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, chlorure de calcium, acétate de calcium, 8 % de protéinase EUH210 : fiche de données de sécurité disponible sur demande. EUH208 : contient de la subtilisine. peut produire une réaction allergique.	22,3 mL
Standard de quantification d'ADN (DNA QS)	Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, < 0,001 % de construction d'ADN non-BKV contenant un site de liaison aux amorces non-BKV et un site unique de liaison à la sonde (ADN non infectieux), < 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique), < 0,1 % d'azoture de sodium	21,2 mL
Tampon d'éluion (EB)	Tampon Tris, 0,2 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	21,2 mL
Réactif 1 de master mix (MMX-R1)	Acétate de manganèse, hydroxyde de potassium, < 0,1 % d'azoture de sodium	7,5 mL
Réactif 2 du master mix BKV (BKV MMX-R2)	Tampon de tricine, acétate de potassium, < 18 % de sulfoxyde de diméthyle, glycérol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % d'amorces d'amont et d'aval de BKV, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de standard de quantification, < 0,01 % de sondes oligonucléotidiques marquées par fluorescence spécifiques au BKV et au standard de quantification du BKV, < 0,01 % d'aptamère d'oligonucléotide, < 0,1 % d'ADN polymérase Z05D, < 0,10 % d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracil-N-glycosylase), < 0,1 % d'azoture de sodium	9,7 mL

Tableau 2 cobas® EBV/BKV Control Kit

cobas® EBV/BKV Control Kit Conserver à 2-8 °C (P/N 08688214190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements*
Contrôle positif bas de EBV/BKV (EBV/BKV L(+))C	< 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique de BKV encapsulé dans la protéine d'enveloppe bactériophage lambda, plasma humain normal, ADN du BKV non détectable par les méthodes de PCR. 0,1 % de conservateur ProClin® 300**	4 mL (8 × 0,5 mL)	  AVERTISSEMENT H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. P261 : éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P272 : Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 55965-84-9 Masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° CE 247-500-7] et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one [n° CE 220-239-6] (3:1)
Contrôle positif haut de EBV/BKV (EBV/BKV H(+))C	< 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique de BKV encapsulé dans la protéine d'enveloppe bactériophage lambda, plasma humain normal, ADN du BKV non détectable par les méthodes de PCR. 0,1 % de conservateur ProClin® 300**	4 mL (8 × 0,5 mL)	  AVERTISSEMENT H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. P261 : éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P272 : Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 55965-84-9 Masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° CE 247-500-7] et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one [n° CE 220-239-6] (3:1)

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

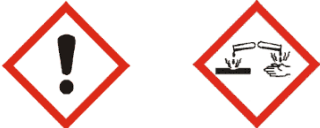
** Substance dangereuse.

Tableau 3 cobas® Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**Conserver à 2-8 °C
(P/N 07002238190)

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

Réactifs cobas omni pour préparation des échantillons

Tableau 4 Réactifs **cobas omni** pour préparation des échantillons*

Réactifs	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Conserver à 2-8 °C (P/N : 06997546190)	Particules magnétiques de verre, tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium	480 tests	Non applicable
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conserver à 2-8 °C (P/N : 06997511190)	Tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium	4 × 875 mL	Non applicable
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Conserver à 2-8 °C (P/N : 06997538190)	43 % (m/m) de thiocyanate de guanidinium***, 5 % (m/v) de polidocanol***, 2 % (m/v) de dithiothréitol***, citrate de sodium dihydraté	4 × 875 mL	 <p>DANGER</p> <p>H302 + H332 : Nocif en cas d'ingestion ou par inhalation. H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P273 : Éviter le rejet dans l'environnement. P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P303 + P361 + P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau. P304 + P340 + P310 EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. P305 + P351 + P338 + P310 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. 593-84-0 Thiocyanate de guanidinium 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Conserver à 15-30 °C (P/N : 06997503190)	Citrate de sodium dihydraté, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	4,2 L	Non applicable

* Ces réactifs ne sont pas inclus dans le kit de test **cobas®** BKV. Voir la liste du matériel supplémentaire nécessaire (Tableau 7).

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

*** Substance dangereuse.

Conditions de manipulation et de stockage des réactifs

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

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

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

Réactif	Température de stockage
cobas® BKV – 192	2-8 °C
cobas® EBV/BKV Control Kit	2-8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2-8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas omni Wash Reagent	15-30 °C

Les réactifs chargés sur les cobas® 6800/8800 Systems sont stockés à des températures appropriées et leur date de péremption est surveillée par le système. Les cobas® 6800/8800 Systems ne permettent l'utilisation des réactifs que si toutes les conditions indiquées dans le Tableau 6 sont remplies. Le système empêche automatiquement l'utilisation de réactifs périmés. Le Tableau 6 permet à l'utilisateur de comprendre les conditions de manipulation des réactifs appliquées par les cobas® 6800/8800 Systems.

Tableau 6 Conditions de péremption des réactifs appliquées par les cobas® 6800/8800 Systems

Réactif	Date de péremption du kit	Stabilité de kit ouvert	Nombre de runs possibles avec ce kit	Stabilité à bord (cumul du temps à bord, en dehors du réfrigérateur)
cobas® BKV – 192	Date non passée	90 jours à partir de la première utilisation	40 runs max.	40 heures max.
cobas® EBV/BKV Control Kit	Date non passée	Non applicable ^a	Non applicable	8 heures max.
cobas® Buffer Negative Control Kit	Date non passée	Non applicable ^a	Non applicable	10 heures max.
cobas omni Lysis Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni MGP Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Specimen Diluent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Wash Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable

^a Réactifs à usage unique.

* Durée mesurée à partir du premier chargement du réactif sur les cobas® 6800/8800 Systems.

Matériel supplémentaire nécessaire

Tableau 7 Matériel et consommables à utiliser sur les **cobas®** 6800/8800 Systems

Matériel	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Sac à déchets solides et réservoir à déchets solides ou Sac à déchets solides avec insert et kit tiroir	07435967001 et 07094361001 ou 08030073001 et 08387281001
Réservoir à déchets solides	07094361001
Tubes secondaires cobas omni 13 × 75 (en option)	06438776001

Instruments et logiciels nécessaires

Le logiciel **cobas®** 6800/8800 et les fichiers d'analyse **cobas®** BKV doivent être installés sur le ou les instrument(s).
Le serveur IG (Instrument Gateway) est livré avec le système.

Tableau 8 Instruments

Équipement	P/N
cobas® 6800 System (version mobile)	05524245001 et 06379672001
cobas® 6800 System (fixe)	05524245001 et 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Module de chargement des échantillons	06301037001

Pour obtenir plus d'informations, veuillez consulter l'Assistance Utilisateur et/ou le guide de l'utilisateur des **cobas®** 6800/8800 Systems.

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

Précautions et conditions de manipulation

Avertissements et précautions

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

- Destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- L'utilisation du test **cobas®** BKV en tant que test de dépistage du BKV dans le sang ou les produits sanguins n'a pas été évaluée.
- Tous les échantillons de patient doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, telles que celles mentionnées dans Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ainsi que dans le document M29-A4 du CLSI.^{13, 14} Seul le personnel expert dans la manipulation du matériel présentant un risque biologique ainsi que dans l'utilisation du test **cobas®** BKV et des **cobas®** 6800/8800 Systems doit effectuer cette procédure.
- Tout produit d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infectieux et doit être manipulé selon les précautions universelles. En cas d'éclaboussures, désinfecter immédiatement avec une solution fraîchement préparée contenant 0,5 % d'hypochlorite de sodium dans de l'eau distillée ou déionisée (eau de javel ménagère diluée à 1:10) ou suivre les procédures locales appropriées.
- Le **cobas®** EBV/BKV Control Kit contient du plasma dérivé de sang humain. Le matériel source a été testé par les méthodes de PCR et a montré des traces acceptables de faibles niveaux d'ADN du BKV. Toutefois, aucune méthode de test connue ne peut garantir avec une certitude absolue que des produits dérivés de sang humain sont exempts de tout risque de transmission d'agents infectieux.
- **Ne pas congeler le sang total ni tout échantillon stocké dans des tubes primaires.**
- Utiliser uniquement les consommables nécessaires fournis ou indiqués afin d'assurer des performances de test optimales.
- Les fiches de sécurité (ou SDS pour Safety Data Sheets) sont disponibles sur demande auprès de votre représentant Roche local.
- Suivre rigoureusement les procédures et les directives fournies pour assurer le bon déroulement du test. Toute déviation des procédures et directives peut affecter les performances du test.
- Il existe un risque de faux positifs si la contamination croisée des échantillons n'est pas correctement contrôlée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.

Manipulation des réactifs

- Manipuler tous les réactifs, contrôles et échantillons selon les bonnes pratiques de laboratoire afin d'éviter une contamination croisée des échantillons ou des contrôles.
- Avant utilisation, inspecter visuellement chaque cassette de réactifs, diluant, réactif de lyse et réactif de lavage pour détecter tout signe de fuite. En présence de fuite, ne pas utiliser ce matériel pour le test.
- Le **cobas omni** Lysis Reagent contient du thiocyanate de guanidine, un produit chimique dangereux. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure.

- Les kits de test **cobas®** BKV, le **cobas omni** MGP Reagent et le **cobas omni** Specimen Diluent contiennent de l'azote de sodium en tant que conservateur. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure. Si ces réactifs sont renversés, diluer avec de l'eau avant d'essuyer.
- Éviter tout contact entre le **cobas omni** Lysis Reagent, qui contient du thiocyanate de guanidine, et la solution d'hypochlorite de sodium (eau de javel). Le mélange peut produire un gaz extrêmement toxique.
- Jeter tout le matériel qui a été en contact avec les échantillons et réactifs conformément à la réglementation nationale, fédérale, régionale et locale.

Bonnes pratiques de laboratoire

- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail désignées.
- Porter des gants de laboratoire, des blouses de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation d'échantillons et de réactifs. Les gants doivent être changés entre la manipulation d'échantillons et la manipulation de kits **cobas®** BKV et de réactifs **cobas omni** afin d'éviter toute contamination. Éviter la contamination des gants lors de la manipulation des échantillons et des contrôles.
- Bien se laver les mains après la manipulation d'échantillons et de réactifs de test, et après le retrait des gants.
- Nettoyer et désinfecter soigneusement tous les plans de travail du laboratoire avec une solution fraîchement préparée d'hypochlorite de sodium à 0,5 % dans de l'eau distillée ou déionisée (eau de javel ménagère diluée à 1:10), puis essuyer les surfaces avec de l'éthanol à 70 %.
- En cas d'éclaboussures sur les **cobas®** 6800/8800 instruments, suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur et/ou du guide de l'utilisateur des **cobas®** 6800/8800 Systems afin de nettoyer et de décontaminer correctement les surfaces du ou des instruments.

Prélèvement, transport et conservation des échantillons

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

Conserver tous les échantillons aux températures indiquées.

La stabilité des échantillons est affectée par les températures élevées.

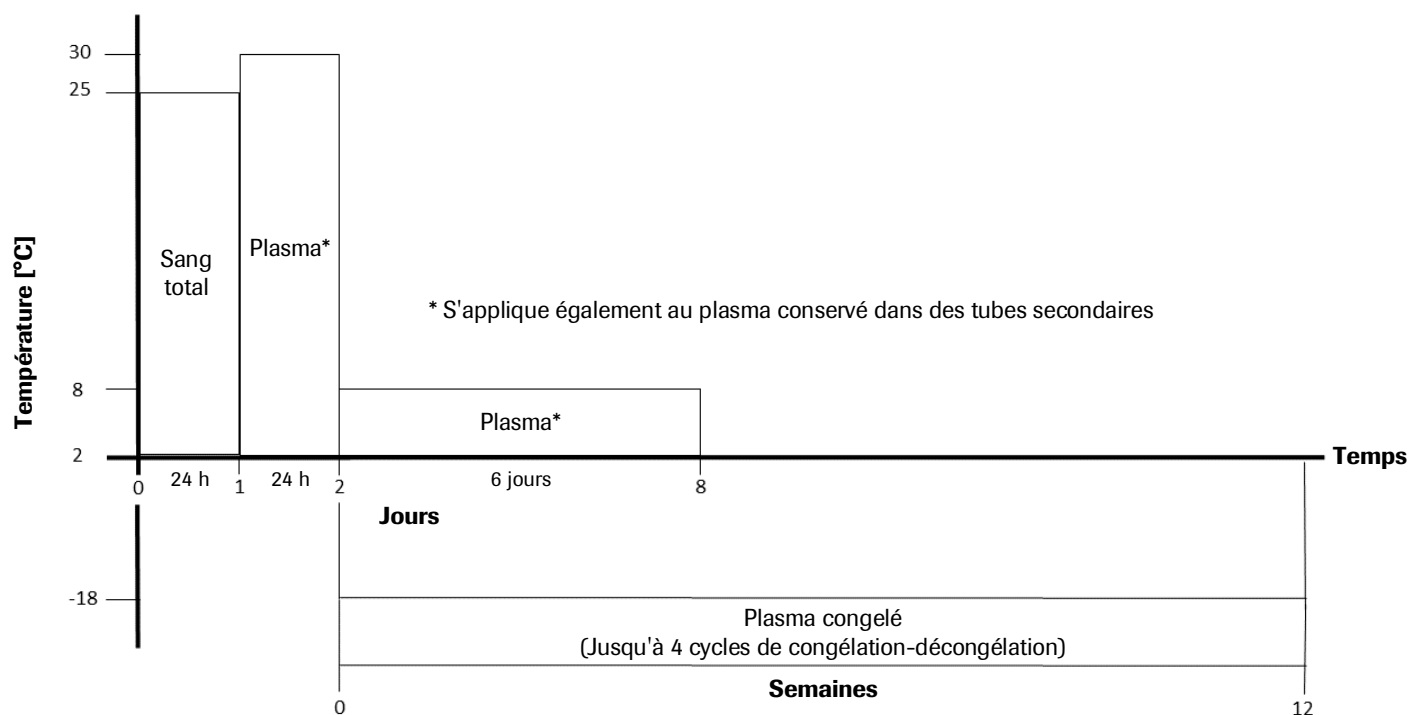
En cas d'utilisation d'échantillons congelés dans des tubes secondaires, mettre les échantillons à température ambiante (15 à 30 °C) jusqu'à ce qu'ils soient complètement décongelés, puis les mélanger brièvement (par exemple passer au vortex pendant 3 à 5 secondes) et les centrifuger pour regrouper le volume échantillon complet au fond du tube.

Échantillons

- Le sang total doit être prélevé dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant. Suivre les instructions du fabricant des tubes de prélèvement d'échantillons. Consulter la Figure 1.
- Le sang total prélevé dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant peut être conservé et/ou transporté à une température comprise entre 2 °C et 25 °C pendant 24 heures au maximum avant la préparation du plasma. La centrifugation doit être effectuée conformément aux instructions du fabricant.

- Après la séparation, les échantillons de plasma peuvent être conservés dans des tubes primaires ou secondaires pendant 24 heures à une température comprise entre 2 °C et 30 °C, puis :
 - Conservation dans des tubes primaires ou secondaires pendant une durée maximale de 6 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C.
 - Conservation dans des tubes secondaires pendant une durée maximale de 12 semaines à une température ≤ -18 °C.
- Les échantillons de plasma sont stables pendant un maximum de quatre cycles de congélation/décongélation lorsqu'ils sont conservés à ≤ -18 °C.

Figure 1 Conditions de stockage des échantillons



- Si les échantillons sont expédiés, ils doivent être emballés et étiquetés conformément aux réglementations nationales et internationales sur le transport d'échantillons et d'agents étiologiques.

Instructions d'utilisation

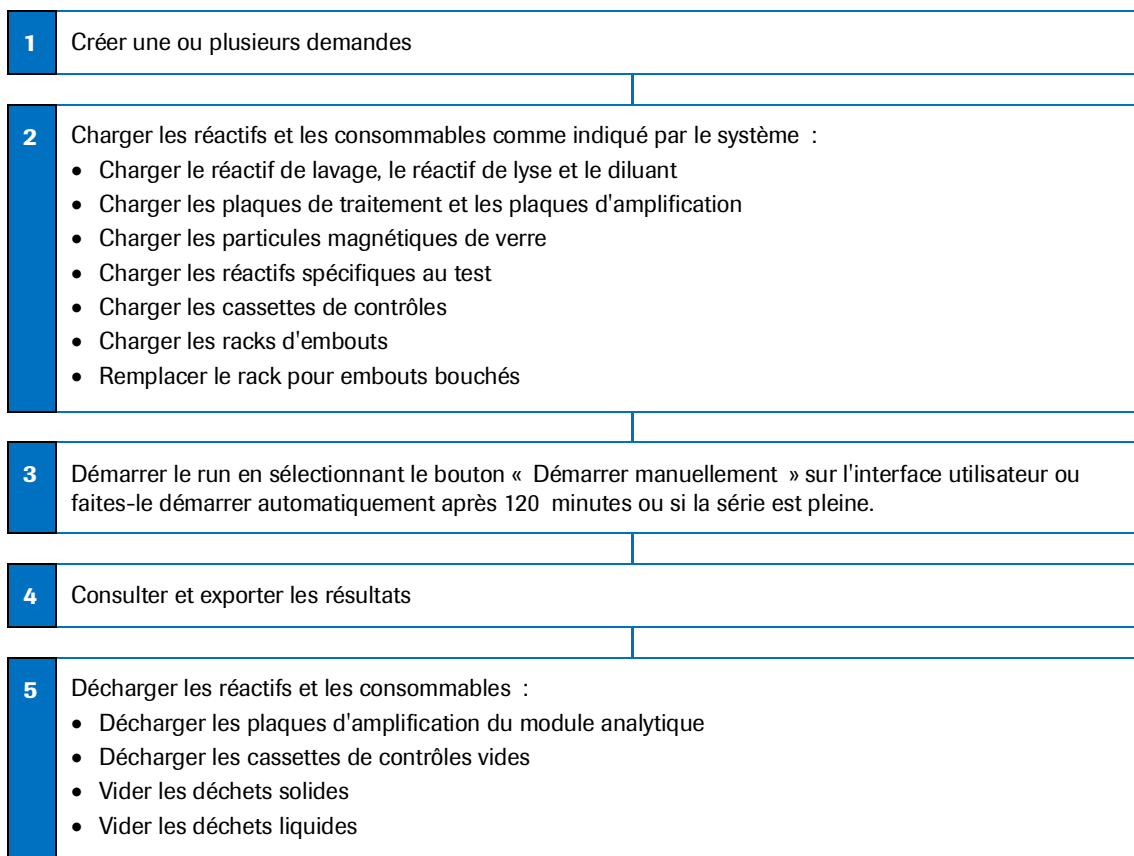
Notes de procédure

- Ne pas utiliser les réactifs du test **cobas®** BKV, le **cobas®** EBV/BKV Control Kit, du **cobas®** Buffer Negative Control Kit, ni les réactifs **cobas omni** après leur date de péremption.
- Ne pas réutiliser les consommables. Ils sont destinés à un usage unique.
- Se reporter à l'Assistance Utilisateur et/ou au guide de l'utilisateur des **cobas®** 6800/8800 Systems pour obtenir des informations sur la bonne maintenance des instruments.

Exécution du test **cobas®** BKV

Le test **cobas®** BKV peut être exécuté avec un volume d'échantillon requis de 200 µL. La procédure de test est décrite en détail dans l'Assistance Utilisateur et/ou le guide de l'utilisateur des **cobas®** 6800/8800 Systems. La Figure 2 ci-dessous résume la procédure.

Figure 2 Procédure de **cobas®** BKV



Résultats

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

Contrôle qualité et validité des résultats

- Un contrôle négatif [(-) C] et deux contrôles positifs, un contrôle positif bas [EBV/BKV L(+)C] et un contrôle positif haut [EBV/BKV H(+)C], sont traités avec chaque série.
- Dans le logiciel cobas® 6800/8800 et/ou dans le rapport, consulter les alertes et les résultats associés pour s'assurer de la validité de la série.
- La série est valide si aucune alerte n'apparaît pour les trois contrôles, constitués d'un contrôle négatif et de deux contrôles positifs : EBV/BKV L(+)C, EBV/BKV H(+)C. Dans les résultats, le contrôle négatif s'affiche sous la forme (-) C et les contrôles positifs bas et haut s'affichent sous la forme EBV/BKV L(+)C et EBV/BKV H(+)C.

L'invalidation des résultats est effectuée automatiquement par le logiciel cobas® 6800/8800 en fonction des échecs des contrôles négatifs et positifs.

Alertes de contrôle

Tableau 9 Alertes de contrôle pour les contrôles négatifs et positifs

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

Si la série de contrôle est invalide, retester tous les échantillons de la série affectée.

Interprétation des résultats

Pour une série valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel **cobas**® 6800/8800 et/ou dans le rapport. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

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

Tableau 10 Résultats cibles pour l'interprétation des résultats cibles individuels

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

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

Limites du test

- Le test **cobas**® BKV a été évalué uniquement pour être utilisé conjointement au **cobas**® EBV/BKV Control Kit, au **cobas**® Buffer Negative Control Kit, au **cobas omni** MGP Reagent, au **cobas omni** Lysis Reagent, au **cobas omni** Specimen Diluent et au **cobas omni** Wash Reagent sur les **cobas**® 6800/8800 Systems.
- La fiabilité des résultats dépend du suivi correct des procédures de prélèvement, stockage et manipulation des échantillons.
- Ce test a été validé pour être utilisé exclusivement avec du plasma EDTA. L'analyse d'autres types d'échantillons avec le test **cobas**® BKV peut aboutir à des résultats inexacts. Les mesures de charge virale du plasma ne sont pas directement comparables à celles d'autres types d'échantillons.
- La quantification de l'ADN du BKV peut être affectée par les méthodes de collecte d'échantillons, les facteurs relatifs aux patients (c'est-à-dire l'âge, la présence de symptômes) et/ou le stade de l'infection.
- Comme pour tout test moléculaire, des mutations aux niveaux des régions cibles du test **cobas**® BKV peuvent affecter la liaison des amorces et/ou des sondes et entraîner une sous-quantification du virus ou l'échec de la détection du virus.
- En raison des différences inhérentes à chaque technologie, il est recommandé aux utilisateurs, avant de passer d'une technologie à l'autre, de mener des études de corrélation de méthodes au sein de leur laboratoire afin de caractériser les différences entre les diverses technologies. Les utilisateurs doivent suivre leurs propres politiques/procédures.
- Le test **cobas**® BKV n'est pas destiné au dépistage du BKV dans le sang ou les produits sanguins.

Évaluation des performances non cliniques

Caractéristiques clés des performances

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

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

Les résultats obtenus pour le plasma EDTA sont indiqués du Tableau 11 au Tableau 13. Cette étude démontre qu'avec le lot le moins sensible, la concentration pour laquelle un taux de succès de 95 % est attendu avec PROBIT est de 21,5 UI/mL avec un intervalle de confiance à 95 % de 16,3 à 32,4 UI/mL dans du plasma EDTA. La concentration la plus faible avec un taux de succès ≥ 95 % est 19,0 UI/mL dans du plasma EDTA.

Tableau 11 Limite de détection dans le plasma EDTA, lot 1

Concentration de titre d'entrée (ADN du BKV, UI/mL)	Nb de répliquats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	46	73,0
4,75	63	36	57,1
2,38	63	23	36,5
0	62	0	0,0
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	21,5 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 16,3 à 32,4 UI/mL		

Tableau 12 Limite de détection dans le plasma EDTA, lot 2

Concentration de titre d'entrée (ADN du BKV, UI/mL)	Nb de répliquats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %
80,0	62	62	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	61	96,8
9,5	63	48	76,2
4,75	63	34	54,0
2,38	62	23	37,1
0	62	0	0,0
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	19,7 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 15,0 à 29,2 UI/mL		

Tableau 13 Limite de détection dans le plasma EDTA, lot 3

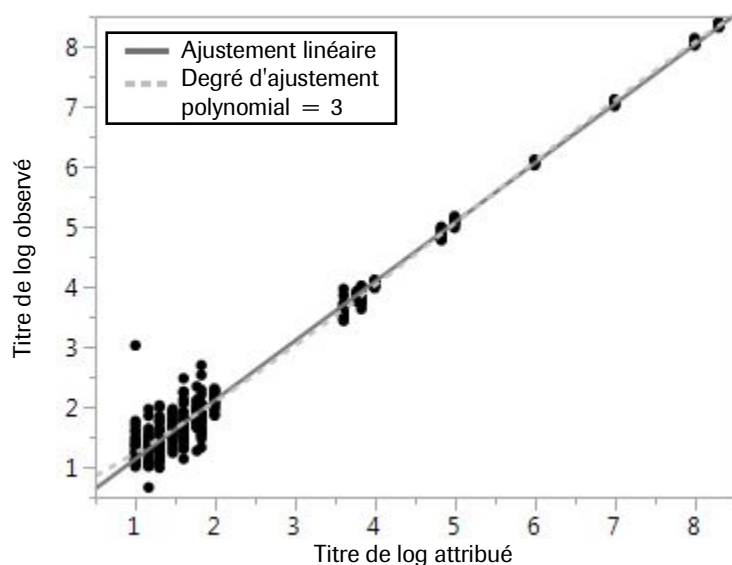
Concentration de titre d'entrée (ADN du BKV, UI/mL)	Nb de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	50	79,4
4,75	63	35	55,6
2,38	63	22	35,0
0	63	0	0,0
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	19,3 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 14,8 à 28,5 UI/mL		

Domaine de linéarité

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

Chaque membre du panel a été testé en 36 réplicats sur trois lots de réactifs du test **cobas**® BKV et les résultats de l'étude sont présentés dans la Figure 3.

Il a été démontré que le test **cobas**® BKV est linéaire de 1,01E+01 UI/mL à 1,97E+08 UI/mL et présente une déviation absolue par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement inférieure ou égale à $\pm 0,1 \log_{10}$ dans le plasma EDTA humain (voir Figure 3). Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à $\pm 0,2 \log_{10}$.

Figure 3 Détermination du domaine de linéarité dans le plasma EDTA

Précision intra-laboratoire

La précision du test **cobas**® BKV a été déterminée en analysant des dilutions en série d'ADN du BKV de titre élevé (sous-groupe Ib) dans du plasma EDTA négatif pour le BKV. Cinq niveaux de dilution ont été testés en 72 répliqués pour chaque niveau sur trois lots de réactifs du test **cobas**® BKV par deux opérateurs, sur quatre instruments, pendant 12 jours. Chaque échantillon a subi la procédure entière du test **cobas**® BKV sur des **cobas**® 6800/8800 Systems entièrement automatisés. La précision indiquée plus bas prend donc en compte tous les aspects de la procédure de test. Les résultats sont présentés dans le Tableau 14.

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

Tableau 14 Précision intra-laboratoire du test **cobas**® BKV

Concentration nominale [UI/mL]	Concentration attribuée [UI/mL]	Plasma EDTA			
		Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
		DS	DS	DS	DS globale
1,00E+06	9,83E+05	0,02	0,02	0,04	0,03
1,00E+05	9,83E+04	0,03	0,04	0,04	0,04
1,00E+04	9,83E+03	0,04	0,05	0,03	0,04
6,00E+03	5,90E+03	0,03	0,05	0,03	0,04
1,00E+02	9,83E+01	0,09	0,11	0,11	0,11

Vérification de sous-type

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

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

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

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

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

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

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

Spécificité

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

Spécificité analytique

La spécificité analytique du test **cobas**® BKV a été évaluée en diluant un panel de microorganismes à une concentration de 1,00E+06 unités/mL (UFC/mL, cellules/mL, UCC/mL, IFU/mL) pour les bactéries et les levures et \geq 1,00E+05 unités/mL (copies/mL, DICT₅₀/mL, UI/mL, cellules/mL) pour les virus avec du plasma EDTA positif pour l'ADN du BKV et un tampon négatif pour l'ADN du BKV. Les organismes spécifiques testés sont répertoriés dans le Tableau 15. Chaque membre du panel a été évalué avec le test **cobas**® BKV. Aucun des agents pathogènes non BKV n'a provoqué d'interférence avec les performances du test.

Tableau 15 Micro-organismes dont la réactivité croisée a été testée

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

Spécificité analytique - substances interférentes

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

De plus, les composés médicamenteux répertoriés au Tableau 16 ont été testés à trois fois la C_{max} en présence et en l'absence d'ADN du BKV.

Il a été démontré qu'aucune substance potentiellement interférente n'affecte les performances du test.

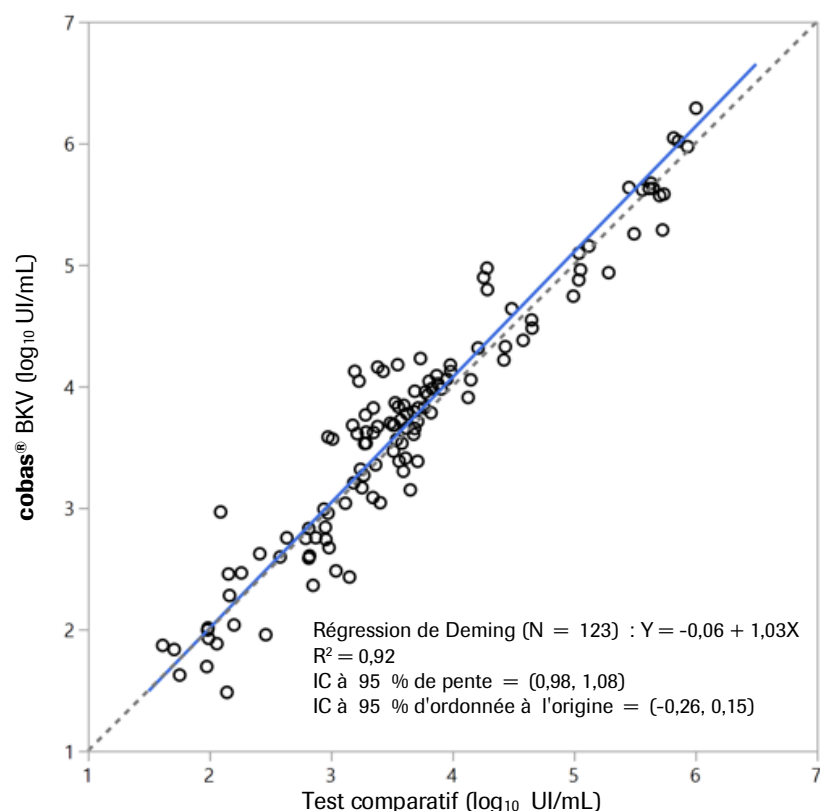
Tableau 16 Composés médicamenteux dont l'interférence avec la quantification de l'ADN du BKV par le test **cobas**® BKV a été testée

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

Corrélation de la méthode

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

Les résultats de la régression de Deming sont indiqués dans la Figure 4.

Figure 4 Analyse de régression comparative du test **cobas®** BKV et d'un test comparatif

Échec complet du système

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

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

Contamination croisée

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

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

Informations supplémentaires

Caractéristiques clés du test
























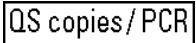









Type d'échantillon	Plasma EDTA
Quantité d'échantillon minimale requise	350 µL*
Volume de prise d'essai d'échantillon	200 µL
Sensibilité analytique	21,5 UI/mL
Domaine de linéarité	21,5 UI/mL à 1E+08 UI/mL
Spécificité	100 %
Sous-types détectés	Sous-types I (avec les sous-groupes Ia et Ic), II, III et IV de BKV

* Volume mort de 150 µL identifié pour les tubes secondaires **cobas omni**. Les autres tubes utilisés pour le test peuvent contenir un volume mort différent et nécessiter un volume minimum plus ou moins élevé.

Symboles

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

Tableau 17 Symboles utilisés dans l'étiquetage des produits de diagnostic par PCR de Roche

	Logiciel auxiliaire		Limite inférieure de la plage assignée		Contrôle négatif
	Mandataire dans la Communauté européenne		Limite supérieure de la plage assignée		Contrôle positif
	Fiche technique à codes-barres		Conserver dans un endroit sombre		Contrôle
	Code du lot		Suffisant pour $<n>$ tests		Plage assignée (copies/mL)
	Risques biologiques		Limites de température		Plage assignée (UI/mL)
	Référence du catalogue		Fichier de définition de tests		Procédure standard
	Consulter les instructions d'utilisation		Fabricant		Procédure ultrasensible
	Contenu du kit		Date limite d'utilisation		Copies QS par réaction de PCR, utiliser les copies QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.
	Distributeur		Code article international		UI QS par réaction de PCR, utiliser les unités internationales (UI) QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.
	Pour évaluation de performance IVD uniquement		Numéro de série		Ce produit répond aux exigences de la Directive européenne 98/79/CE concernant les dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> .
Rx Only	États-Unis : la législation fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux professionnels de santé autorisés à exercer.		Date de fabrication		
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Ne pas réutiliser		

Assistance technique pour les clients aux États-Unis 1-800-526-1247

Fabricant et distributeurs

Tableau 18 Fabricant et distributeurs



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



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

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

Marques commerciales et brevets

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

Copyright

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Références

1. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. Preface. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44:453-5. doi: 10.1038/bmt.2009.254. PubMed PMID: 19861977.
2. Green M. Introduction: Infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:3-8. doi: 10.1111/ajt.12093. PubMed PMID: 23464993.
3. Morel V, Martin E, François C, et al. A simple and reliable strategy for BK virus subtyping and subgrouping. *J Clin Microbiol*. 2017;55:1177-85. doi:10.1128/JCM.01180-16. Epub 2017 Feb 1. PubMed PMID: 2815140.
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. PubMed PMID: 19434930.
5. Pinto M, Dobson S. BK and JC virus: a review. *J Infect*. 2014;68 Suppl 1:S2-8. doi: 10.1016/j.jinf.2013.09.009. Epub 2013 Oct 8. Review. PubMed 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:e13528. [Epub ahead of print] doi: 10.1111/ctr.13528. PubMed PMID: 30859620.
7. Ambalathingal GR, Francis RS, Smyth MJ, Smith C, R Khanna. BK polyomavirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging therapies. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30:503-28. doi: 10.1128/CMR.00074-16. Review. PubMed PMID: 28298471.
8. 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. PubMed PMID: 2227421.
9. 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. PubMed PMID: 7845459.
10. Mol CD, Arvai AS, Slupphau G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PubMed PMID: 7697717.
11. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-7. PubMed PMID: 1368485.
12. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. doi: 10.1101/gr.6.10.986. PubMed PMID: 8908518.
13. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
14. 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.

Révision du document

Informations sur la révision du document	
Doc Rev. 1.0 07/2019	Première publication.