

cobas[®] BKV

Kvantitative nukleinsyretest for bruk på cobas[®] 5800/6800/8800-systemene

For bruk til *in vitro*-diagnostikk

cobas[®] BKV

P/N: 09040960190

For bruk på cobas[®] 5800-systemet

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

For bruk på cobas[®] 6800/8800-systemene

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 eller
P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 eller
P/N: 09051953190

Innholdsfortegnelse

Tiltenkt bruk	5
Oppsummering og forklaring av testen	5
Reagenser og materialer.....	8
cobas® BKV reagenser og kontroller.....	8
cobas® omni-reagenser for prøvepreparering.....	11
Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser	12
Krav til håndtering av reagenser for cobas® 5800-systemet eller cobas® 6800/8800-systemene.....	12
Ytterligere materiell som kreves for cobas® 5800/6800/8800-systemene.....	13
Instrumentering og programvare som kreves.....	15
Krav til oppbevaring og håndtering	16
Advarsler og forholdsregler	16
Håndtering av reagenser	16
God laboratoriepraksis	17
Prøvetaking, transport og oppbevaring	17
EDTA-plasmaprøver	17
Urinprøver	18
Bruksanvisning	19
Merknader til prosedyren.....	19
Kjøre cobas® BKV på cobas® 5800/6800/8800-systemene	19
Resultater	22
Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 2.0 eller nyere.....	22
Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater fra på cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 1.4.....	22
Kontrollflagg på cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 1.4.....	23
Tolkning av resultater på for cobas® 5800/6800/8800-systemene	23
Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 2.0 eller nyere	24

Tolkning av resultater på cobas ® 6800/8800-systemene med programvareversjon 1.4	24
Testens begrensninger	25
Evaluering av analytisk ytelse	26
Systemekvivalens	26
Viktige ytelseskarakteristika for EDTA-plasmaprøvetype	26
Deteksjonsgrense (LoD) med WHO's internasjonale standard	26
Lineært område	27
Presisjon innen laboratoriet	28
Verifisering av subtype	29
Spesifisitet	29
Analytisk spesifisitet	29
Analytisk spesifisitet – interfererende substanser	31
Metodekorrelasjon	31
Systemfeil	32
Krysskontaminering	32
Viktige ytelseskarakteristika for urinprøvetype	33
Deteksjonsgrense (LoD) med WHO's internasjonale standard	33
Lineært område	34
Presisjon innen laboratoriet	35
Verifisering av subtype	35
Spesifisitet	36
Analytisk spesifisitet	36
Analytisk spesifisitet – interfererende substanser	37
Metodekorrelasjon	38
Krysskontaminering	38
Evaluering av klinisk ytelse	39
Reproduserbarhet for cobas ® BKV for prøvetypen EDTA-plasma	39
Ytelse for cobas ® BKV for prøvetypen EDTA-plasma	40
Reproduserbarhet for cobas ® BKV for prøvetypen stabilisert urin	42
Ytelse for cobas ® BKV for prøvetypen stabilisert urin	43

Tilleggsinformasjon	46
Viktige analysefunksjoner	46
Symboler	47
Teknisk støtte	48
Produsent og importør	48
Varemerker og patenter	48
Opphavsrett	48
Referanser	49
Dokumentrevisjon	50

Tiltenkt bruk

cobas® BKV er en *in vitro*-nukleinsyreamplifikasjonstest for kvantitering av BK-virus-DNA (BKV) i humant EDTA-plasma og human urin stabilisert i **cobas**® PCR Media.

I EDTA-plasma skal **cobas**® BKV brukes som et hjelpemiddel ved diagnostisering og oppfølging av BKV hos transplantasjonspasienter. Hos pasienter som gjennomgår overvåking av BKV, kan serielle DNA-målinger av EDTA-plasma brukes for å indikere behovet for mulige behandlingsendringer og for å vurdere viral respons på behandlingen.

I urin stabilisert i **cobas**® PCR Media skal **cobas**® BKV brukes som et hjelpemiddel ved diagnostisering og oppfølging av BKV hos transplantasjonspasienter.

Resultatene fra **cobas**® BKV må tolkes i sammenheng med alle relevante kliniske funn og laboratoriefunn.

cobas® BKV er ikke beregnet for bruk som screeningstest for blod eller blodprodukter.

Oppsummering og forklaring av testen

Bakgrunn

Transplantasjonspasienter har økt risiko for mange virus- og bakterieinfeksjoner som mer sannsynlig vil forårsake alvorlige negative helsemessige utfall hos den transplanterte pasientpopulasjonen sammenlignet med den friske populasjonen generelt. Denne økte risikoen kan delvis tilskrives nedsatt immunsystemfunksjon forårsaket av de immundempende legemidlene som transplanterte pasienter får for å redusere sannsynligheten for avstøtning av transplantert organ.^{1,2}

BK-virus (BKV) er et lite (~5 kb), ikke-innkapslet deoksyribonukleinsyrevirus (DNA) som tilhører polyomavirusfamilien. Det er fire hovedsubtyper av BKV, der subtype I detekteres oftest (80 %), etterfulgt av subtype IV (15 %).³ BKV-seroprevalens er > 80 % i den friske populasjonen generelt.⁴ Hos immunkompetente personer er ikke BKV forbundet med signifikant patologi. BKV-infeksjon kan imidlertid forårsake alvorlig klinisk sykdom hos personer med nedsatt immunforsvar, inkludert transplantasjonspasienter.⁵

BKV-infeksjoner manifesterer seg oftest i nyrene og urinveiene. Etter primærinfeksjon forblir viruset latent i det rørformede nyreepitel og ureterepitel, og kan reaktiveres hos personer med nedsatt immunforsvar. Nyretransplantasjonspasienter har høyere risiko for komplikasjoner knyttet til BKV sammenlignet med mottakere av andre typer transplanterte organer, inkludert polyomavirus nefropati (PVN) og ureterstenose. PVN forekommer hos opptil 10 % av nyretransplantasjonspasienter, og omtrent 50 % av PVN-berørte pasienter vil oppleve svikt i transplantert organ. I tillegg utvikler omtrent 3 % av nyretransplantasjonspasienter ureterstenose knyttet til BKV.⁵ Pasienter som har fått transplantasjon av hematopoietiske stamceller (HSCT) opplever også hyppigere komplikasjoner knyttet til BKV, som oftest i form av hemoragisk cystitt (HC). Mellom 5 og 15 % av HSCT-pasienter opplever HC.¹

Retningslinjer anbefaler regelmessig overvåking for BKV hos nyretransplantasjonspasienter i opptil 5 år etter transplantasjon.⁶ Denne overvåkingstilnærmingen kan identifisere 80–90 % av pasientene som står i fare for å utvikle PVN. Plasmatesting for BKV-viremi anbefales som en del av strategien for å identifisere pasienter med økt risiko for PVN, enten som en bekreftende test for pasienter der BKV-viruri detekteres, eller som den primære testmetoden for rutinemessig screening.⁶ Det er foreløpig ingen anbefalinger for rutinemessig BKV-overvåking for HSCT-pasienter, og testing anbefales først og fremst for evaluering av pasienter med hematuri og kliniske symptomer på cystitt. Et BKV-DNA-nivå større enn 10 000 kopier/ml er imidlertid forbundet med en høyere risiko for HC hos transplantasjonspasienter.⁷

For pasienter som har gjennomgått nyretransplantasjon, og som har en vedvarende økning i BKV-DNA-nivåer for plasma, ofte definert som en måling over 10 000 kopier/ml, anbefales plasmatesting for BKV hver 1–2 uker til DNA-nivået går tilbake til et nivå som ikke kan detekteres i to påfølgende målinger.

Mange laboratorietester for BKV-kvantitering er ikke standardiserte, noe som fører til høy variabilitet mellom ulike laboratorier og analyser.^{6,7} I tillegg kan bestanddeler i urin føre til BKV-aggregering, som kan påvirke kvantitativ variabilitet.^{8,9} Formell vurdering av reproduserbarheten og gyldigheten av BKV-DNA-nivåer er avgjørende for å sikre konsekvente resultater (uavhengig av hvilket laboratorium som utførte analysen) for klinisk oppfølging av pasienter med BKV-relaterte sykdommer.

Selv om den nøyaktige medisinske relevante virusterskelen fremdeles er gjenstand for debatt på grunn av variabilitet mellom analyser, synes konseptet med den kritiske terskelen å være gyldig og er rapportert i naturhistoriske studier som viser at høyere BKV-DNA-nivåer er forbundet med økt risiko for å utvikle PVN og HC.^{6,7}

Begrunnelse for NAT-testing

Polyomavirusserologi brukes ikke rutinemessig i kliniske miljøer. Det er kun av verdi for å bestemme om en pasient tidligere har blitt smittet med BKV og står i fare for reaktivering. Virusdykningsmetoder tar lang tid å gjennomføre, og ettersom de er semikvantitative, har de begrenset nytteverdi for pasienter med svekket immunforsvar, som ofte har lave virusnivåer. Direkte deteksjon av BKV-DNA med sanntids-PCR-metoder kan gi et resultat over et stort dynamisk område, presisjon og optimal sensitivitet og spesifisitet for bruk hos transplantasjonspasienter.

Forklaring av testen

cobas® BKV er en kvantitativ test som kjøres på **cobas**® 5800/6800/8800-systemene. **cobas**® BKV gjør det mulig å detektere og kvantitere BKV-DNA i EDTA-plasma og urin stabilisert i **cobas**® PCR Media fra infiserte pasienter. BKV-DNA-nivået kvantiteres i forhold til en ikke-BKV-DNA kvantiteringsstandard (DNA-QS), som tilsettes i hver prøve under prøveprosessering. DNA-QS overvåker også hele prøveprepareringen og PCR-amplifikasjonsprosessen. I tillegg bruker testen tre eksterne kontroller: en høytiter positiv kontroll, en lavtiter positiv kontroll og en negativ kontroll. Ekstern høy og lav positiv kontroll er produsert ved fortykning fra stamløsninger med en titer som kan spores til BKV 1st WHO International Standard (NIBSC-kode: 14/212). Hver amplifikasjons-deteksjonskitlot kalibreres og kan spores til 1st BKV WHO International Standard (NIBSC-kode: 14/212).

Testprinsipper

cobas® BKV er basert på helautomatisk prøvepreparering (nukleinsyreekstraksjon og rensing) etterfulgt av PCR-amplifikasjon og deteksjon. **cobas**® 5800-systemet er utformet som ett integrert instrument. **cobas**® 6800/8800-systemene består av prøvforsyningsmodulen, overføringsmodulen, prosesseringsmodulen og analysemodulen. Automatisk data-behandling utføres av programvaren for **cobas**® 5800- eller **cobas**® 6800/8800-systemene, som tilordner testresultater for alle analyser som enten “Target not detected”, “BKV DNA detected < LLoQ” (nedre kvantiteringsgrense), “BKV DNA detected > ULoQ” (øvre kvantiteringsgrense) eller en verdi i linearitetsområdet $LLoQ < x < ULoQ$. Resultatene kan vises direkte på systemskjermen, eksporteres eller skrives ut som en rapport.

Nukleinsyre fra pasientprøvene og tilsatte lambda-DNA-QS-molekyler blir ekstrahert samtidig. Virusnukleinsyren blir frigjort ved å tilsette proteinase og lysteringsreagens i prøven. Den frigjorte nukleinsyren bindes til silikaoverflaten på de tilsatte magnetiske glasspartiklene. Ubundne substanser og urenheter, som denaturert protein, cellerester og potensielle

PCR-hemmere, fjernes under de påfølgende vasketrinnene. Rensede nukleinsyrer elueres fra glasspartiklene med elueringsbuffer ved høy temperatur.

Målnukleinsyren amplifiseres selektivt fra prøven ved bruk av en virusspesifikk tilnærming med to målområder fra høykonserverte regioner av BKV lokalisert i den lille t-antigenregionen for BKV og BKV VP2-regionen. DNA-QS amplifiseres selektivt ved bruk av sekvensspesifikke oppstrøms- og nedstrømsprimere som er utvalgt fordi de ikke har noen homologi med BKV-genomet. Et termostabilt DNA-polymeraseenzym brukes til amplifikasjon. Mål- og DNA-QS-sekvensene amplifiseres samtidig ved bruk av en universell PCR-amplifikasjonsprofil med forhåndsdefinerte temperaturtrinn og antall sykluser. Master Mix inneholder deoksyuridintrifosfat (dUTP) i stedet for deoksytymidintrifosfat (dTTP), som inngår i det nylig syntetiserte DNA-et (amplikon).¹⁰⁻¹² Eventuelle kontaminerende amplikon fra tidligere PCR-kjøringer elimineres av AmpErase-enzymet, som er inkludert i PCR-blandingen, under temperaturøkningen i det første varmetrinnet. Det nydannede amplikonet blir imidlertid ikke eliminert, siden AmpErase-enzymet blir inaktivert når det eksponeres for temperaturer over 55 °C.

cobas® BKV Master Mix inneholder to deteksjonsprober som er spesifikke for BKV-målsekvensen, samt én for DNA-QS. Probene er merket med målspesifikke rapporteringsfluoroforer, som muliggjør samtidig deteksjon av BKV-mål og DNA-QS i to ulike målkkanaler.^{13,14} Fluorescenssignalet for de intakte probene undertrykkes av slukkerfluoroforen. Under PCR-amplifikasjonstrinnet hybridiseres probene til de spesifikke enkeltrådede DNA-templatene, og blir deretter splittet av 5'-til-3'-nukleaseaktiviteten til DNA-polymerasen. Dette fører til at rapporterings- og slukkerfluoroforene separeres og at det genereres et fluorescenssignal. Med hver PCR-syklus blir det generert stadig flere splittede prober, og det samlede signalet for rapporteringsfluoroforen økes samtidig. Sanntidsdeteksjon og differensiering av PCR-produkter oppnås ved å måle fluorescensen fra de frigjorte rapporteringsfluoroforene for virusmålene og DNA-QS.

Reagenser og materialer

cobas® BKV reagenser og kontroller

Materialer som leveres for cobas® BKV, finner du i Tabell 1. Materialer som kreves, men som ikke medfølger, finner du i Tabell 2 til Tabell 4 og Tabell 8 til Tabell 10.

Alle uåpnede reagenser og kontroller skal oppbevares som anbefalt i Tabell 1 til Tabell 4.

Tabell 1 cobas® BKV

cobas® BKV

Oppbevares ved 2–8 °C

Kassett med 192 tester (P/N 09040960190)





Komponenter i kitet	Reagensingredienser	Mengde per kit 192 tester
Proteinaseløsning (PASE)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, kalsiumklorid, kalsiumacetat, 8 % proteinase, glyserol EUH210: Sikkerhetsdatablader er tilgjengelige på forespørsel. EUH208: Inneholder subtilisin fra <i>Bacillus subtilis</i> . Kan utløse en allergisk reaksjon.	22,3 ml
DNA- kvantiteringsstandard (DNA QS)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ikke-BKV-DNA-konstruksjon som inneholder ikke-BKV-primerbindingsregion og en unik proberegion (ikke-infeksiøst DNA), < 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffer (EB)	Tris-buffer, 0,2 % metyl-4-hydroksybenzoat	21,2 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroksid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
BKV Master Mix-reagens 2 (BKV MMX-R2)	Trisinbuffer, kaliumacetat, < 18 % dimetylsulfoksid, glyserol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % oppstrøms og nedstrøms BKV-primere, < 0,01 % kvantiteringsstandard oppstrøms- og nedstrømsprimere, < 0,01 % fluoroformerkede oligonukleotidprober spesifikke for BKV og BKV-kvantiteringsstandard, < 0,01 % oligonukleotidaptamer, < 0,01 % Z05D DNA-polymerase, < 0,1 % AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylase) (mikrobiell), < 0,1 % natriumazid	9,7 ml

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

Oppbevares ved 2–8 °C

For bruk på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 2.0 eller nyere (P/N 09040951190)

For bruk på cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 1.4 (P/N 08688214190 eller P/N 09040951190)

Komponenter i kitet	Reagensingredienser	Mengde per kit	Sikkerhetssymbol og advarsel*
EBV/BKV lav positiv kontroll (EBV/BKV L(+))C)	< 0,001 % syntetisk (plasmid) BKV-DNA innkapslet i Lambda-bakteriofagbelagt protein, normalt humant plasma, BKV-DNA som ikke er detekterbart med PCR-metoder < 0,1 % ProClin® 300 konserveringsvæske**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  ADVARSEL H317: Kan utløse en allergisk hudreaksjon. H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann. P261: Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler. P273: Unngå utslipp til miljøet. P280: Bruk vernehansker. P333 + P313: Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp. P362 + P364: Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt. P501: Innhold/beholder leveres til et godkjent avfallsanlegg. 55965-84-9 Reaksjonsmasse av: 5-klor-2-metyl-4-isotiazolin-3-on og 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1).
EBV/BKV høy positiv kontroll (EBV/BKV H(+))C)	< 0,001 % syntetisk (plasmid) BKV-DNA innkapslet i Lambda-bakteriofagbelagt protein, normalt humant plasma, BKV-DNA som ikke er detekterbart med PCR-metoder < 0,1 % ProClin® 300 konserveringsvæske**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  ADVARSEL H317: Kan utløse en allergisk hudreaksjon. H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann. P261: Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler. P273: Unngå utslipp til miljøet. P280: Bruk vernehansker. P333 + P313: Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp. P362 + P364: Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt. P501: Innhold/beholder leveres til et godkjent avfallsanlegg. 55965-84-9 Reaksjonsmasse av: 5-klor-2-metyl-4-isotiazolin-3-on og 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1).

* Produktsikkerhetsmerking følger primært EUs GHS-retningslinjer.

** Farlig stoff eller blanding.

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

Oppbevares ved 2–8 °C


For bruk på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 2.0 eller nyere (P/N 09051953190)

For bruk på cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 1.4 (P/N 07002238190 eller P/N 09051953190)

Komponenter i kitet	Reagensingredienser	Mengde per kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tris-buffer, < 0,1 % natriumazid, EDTA, 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk)	16 ml (16 × 1 ml)

cobas® omni-reagenser for prøvepreparering

Tabell 4 cobas® omni-reagenser for prøvepreparering

Reagenser	Reagensingredienser	Mengde per kit	Sikkerhetssymbol og advarsel*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Oppbevares ved 2–8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiske glasspartikler, Tris-buffer, 0,1 % metyl-4-hydroksybenzoat, < 0,1 % natriumazid	480 tester	Ikke relevant
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Oppbevares ved 2–8 °C (P/N 06997511190)	Tris-buffer, 0,1 % metyl-4-hydroksybenzoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ikke relevant
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Oppbevares ved 2–8 °C (P/N 06997538190)	43 % (vekt per vekt) guanidintiocyanat**, 5 % (vekt/volum) polidokanol**, 2 % (vekt/volum) ditiotreitol**, dihydro-natriumsitrat EUH032: Ved kontakt med syre utvikles meget giftig gass.	4 × 875 ml	 <p>FARE</p> <p>H302 + H332: Farlig ved svelging eller innånding. H314: Gir alvorlige etseskader og øyeskader. H411: Giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann. P273: Unngå utslipp til miljøet. P280: Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann. P304 + P340 + P310: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFT-INFORMASJONSSENTER/en lege. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege. P391: Samle opp spill. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol</p>
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Oppbevares ved 15–30 °C (P/N 06997503190)	Natriumsitratdihydrat, 0,1 % metyl-4 hydroksybenzoat	4,2 l	Ikke relevant

* Produktsikkerhetsmerking følger primært EUs GHS-retningslinjer.

** Farlig stoff eller blanding.

09478124001-04NO

Doc Rev. 4.0

11

Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser

Reagenser skal oppbevares og håndteres som beskrevet i Tabell 5, Tabell 6 og Tabell 7.

Når reagenser ikke er plassert i cobas® 5800-systemet eller cobas® 6800/8800-systemene, skal de oppbevares ved temperaturene som er angitt i Tabell 5.

Tabell 5 Reagenslagring (når reagens ikke er på systemet)

Reagens	Oppbevaringstemperatur
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

Krav til håndtering av reagenser for cobas® 5800-systemet eller cobas® 6800/8800-systemene

Reagenser som er plassert på cobas® 5800-systemet eller cobas® 6800/8800-systemene, oppbevares ved riktige temperaturer, og utløpsdatoen overvåkes og håndheves av systemet. Systemet tillater kun at reagenser brukes hvis alle betingelsene som vises i Tabell 6, Tabell 7 og Tabell 8, er oppfylt. Systemet hindrer automatisk bruk av utløpte reagenser. Informasjon om gjenværende stabilitet for åpne kit og antall kit som er brukt for analysespesifikke reagenser, er tilgjengelig via systemets brukergrensesnitt.

Tabell 6 Betingelser for reagensholdbarhet som overvåkes og håndheves av cobas® 5800-systemet

Reagens	Holdbarhet for åpnet kit	Bruk av kit (antall)	Holdbarhet på systemet
cobas® BKV	90 dager fra første gangs bruk	40	36 dager etter innmating
cobas® EBV/BKV Control Kit	flaske til engangsbruk	8	36 dager etter innmating
cobas® Buffer Negative Control Kit	flaske til engangsbruk	16	36 dager etter innmating

Tabell 7 Betingelser for reagensholdbarhet som overvåkes og håndheves av cobas® 6800/8800-systemene

Reagens	Holdbarhet for åpnet kit	Bruk av kit (antall)	Holdbarhet på systemet (ute av kjøleskap på systemet)
cobas® BKV	90 dager fra første gangs bruk	40	40 timer etter innmating
cobas® EBV/BKV Control Kit	flaske til engangsbruk	8	8 timer etter innmating
cobas® Buffer Negative Control Kit	flaske til engangsbruk	16	10 timer etter innmating

Tabell 8 viser holdbarhet for åpent kit for **cobas® omni**-reagensene. Før hver kjøring verifiserer systemet stabiliteten til det åpne kitet og sikrer tilstrekkelig fyllingsvolum. Derfor har disse reagensene ikke fått tildelt antall bruk av kit eller stabilitet på systemet.

Tabell 8 Betingelse for **cobas® omni** reagensholdbarhet som overvåkes og håndheves av **cobas® 5800/6800/8800**-systemene

Reagens	Holdbarhet for åpent kit
cobas® omni Lysis Reagent	30 dager etter innmating
cobas® omni MGP Reagent	30 dager fra første gangs bruk
cobas® omni Specimen Diluent	30 dager etter innmating
cobas® omni Wash Reagent	30 dager etter innmating

Ytterligere materiell som kreves for **cobas® 5800/6800/8800**-systemene

Tabell 9 Materialer som brukes på **cobas® 5800/6800/8800**-systemene

Materiale	P/N
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190

Tabell 10 Forbruksvarer som brukes på **cobas® 5800**-systemet*

Materiale
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
Spiss CORE TIPS med filter, 1 ml
Spiss CORE TIPS med filter, 300 µl
cobas® omni Liquid Waste Container
Pose for fast avfall eller pose for fast avfall med innsats
16-posisjons S-rørholder komplett
5-posisjons rackholder

* Se brukerstøtten for **cobas® 5800**-systemet for informasjon om delenumre.

Tabell 11 Forbruksvarer som brukes på **cobas**® 6800/8800-systemene*

Materiale
cobas ® omni Processing Plate
cobas ® omni Amplification Plate
cobas ® omni Pipette Tips
cobas ® omni Liquid Waste Container
Pose for fast avfall og beholder for fast avfall eller pose for fast avfall med innsats og skuff for kit
MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 2001-2050**,**

* Se brukerstøtten for **cobas**® 6800/8800-systemene for informasjon om delenumre.

** Kontakt din lokale representant fra Roche for en detaljert ordreliste over hvilke prøverack, rack for tilstoppede spisser og rackbrett som kan brukes på instrumentene.

*** MPA 16 mm rack er de foretrukne rackene for bruk med prøver tatt i **cobas**® PCR Media-rør.

Tabell 12 Urinprøvetakingskit som brukes med **cobas**® BKV

Prøvetakingskit	P/N
cobas ® PCR Urine Sample Kit	05170486190
cobas ® PCR Media Kit	06466281190
cobas ® PCR Media Secondary Tube Kit*	07958048190
cobas ® PCR Media Tube Replacement Cap Kit*	07958056190
cobas ® PCR Media Disposable Tube Stand (tilleggsutstyr)*	07958064190

* Ta kontakt med den lokale representanten fra Roche for detaljer.

Merk: **cobas**® PCR Urine Sample Kit brukes til å ta og transportere urinprøver. Hvert **cobas**® PCR Urine Sample Kit inneholder 100 **cobas**® PCR Urine Sample Packet. Hver pakke inneholder 1 engangspipette og 1 **cobas**® PCR Media-rør, med 4,3 ml **cobas**® PCR Media. **cobas**® PCR Media fungerer som et transport- og lagringsmedium for nukleinsyrestabilisering av urinprøver.

For urinprøver som sendes direkte til laboratoriet uten bruk av **cobas**® PCR Urine Sample Kit ved prøvetaking, kan **cobas**® PCR Media Kit med 100 **cobas**® PCR Media-rør (uten engangspipetter) brukes som et alternativ, under forutsetning av at urin må sendes innen 24 timer etter prøvetaking.

Instrumentering og programvare som kreves

cobas® 5800-programvaren, programvaren til cobas® 6800/8800-systemene og cobas® BKV-analysepakken (ASAP) for cobas® 5800/6800/8800-systemene må være installert.

For cobas® 5800- og cobas® 6800/8800-systemene med programvare 2.0 eller nyere, vil x800 Data Manager-programvaren og PC (eller server) bli levert med systemet.

For cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 1.4, vil Instrument Gateway (IG)-serveren bli levert med systemet.

Tabell 13 Instrumentering

Utstyr	P/N
cobas® 5800-systemet	08707464001
cobas® 6800-systemet	05524245001 og 09575154001
cobas® 8800-systemet	05412722001 og 09575146001
Prøveforsyningsmodul for cobas® 6800/8800-systemene	06301037001 og 09936882001

Se brukerstøtten for cobas® 5800-systemet eller cobas® 6800/8800-systemene for mer informasjon.

Merk: Kontakt din lokale Roche-representant for en detaljert liste over hvilke primære og sekundære prøverør, prøverack, rack for tilstoppede spisser og rackbrett som kan brukes på instrumentene.

Med cobas® BKV kan man bruke primærrørene som brukes for alle urinprøvetyper tatt i cobas® PCR Media.

Krav til oppbevaring og håndtering

Advarsler og forholdsregler

Som med alle laboratorieprosedyrer er god laboratoriepraksis essensielt for å sikre optimal ytelse for denne analysen. På grunn av testens høye sensitivitet, må det utvises aktsomhet for å sikre at reagenser og amplifikasjonsblandinger ikke kontamineres.

- Kun for bruk til *in vitro*-diagnostikk.
- **cobas® BKV** er ikke evaluert for bruk som screeningtest for tilstedeværelse av BKV i blod eller blodprodukter.
- Alle pasientprøver må håndteres som infeksiose, og gode laboratorierutiner må følges. Disse er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories og i CLSI-dokumentet M29-A4.^{15, 16} Kun personell som har opplæring i håndtering av infeksjøst materiale og i bruk av **cobas® BKV** og **cobas® 5800/6800/8800**-systemene, skal utføre denne prosedyren.
- Alt materiale med human opprinnelse skal betraktes som potensielt infeksjøst og skal håndteres i samsvar med universelle forholdsregler. Hvis det oppstår søl, desinfiser umiddelbart med en nylaget løsning av 0,5 % natrium- eller kaliumhypokloritt i destillert eller deionisert vann eller følg gjeldende laboratorieprosedyrer.
- **cobas® EBV/BKV Control Kit** inneholder plasma med opprinnelse i humant blod. Kildematerialet er testet med PCR-metoder og viste akseptable spor av lave nivåer av BKV-DNA. Ingen kjente testmetoder kan garantere helt at produkter fra humant blod ikke vil kunne overføre infeksiose agens.
- **Ikke frys fullblod eller urinprøver som har vært oppbevart i primærrør.**
- Bruk kun medfølgende eller spesifiserte forbruksartikler for å sikre optimal testytelse.
- Sikkerhetsdatablad (SDS) er tilgjengelig fra ditt lokale Roche kontor på forespørsel.
- Følg angitte prosedyrer og retningslinjer nøye for å sikre at testen utføres korrekt. Eventuelle avvik fra prosedyrene og retningslinjene kan påvirke testytelsen, slik at den ikke blir optimal.
- Falske positive resultater kan oppstå hvis krysskontaminering av prøver ikke forhindres under prøvehåndtering og prøveprosessering.
- **cobas® PCR Media** (fra primærprøverør) inneholder guanidinhydroklorid. **Guanidinhydroklorid må ikke komme i direkte kontakt med natrium eller kaliumhypokloritt eller andre svært reaktive reagenser, som syrer eller baser. Slike blandinger kan produsere en skadelig gass.**
- Hvis væske som inneholder guanidinhydroklorid, søles, må du rengjøre med passende laboratorierengjøringsmiddel og vann. Hvis den utsølte væsken inneholder potensielt infeksiose agens, skal det berørte området **FØRST** rengjøres med laboratorierengjøringsmiddel og vann, og deretter med 0,5 % natrium- eller kaliumhypokloritt.
- Informer lokale kompetente myndigheter og produsenten om eventuelle alvorlige hendelser som kan oppstå når du bruker denne analysen.

Håndtering av reagenser

- Håndter alle reagenser, kontroller og prøver i henhold til god laboratoriepraksis for å unngå krysskontaminering av prøver eller kontroller.
- Inspiser visuelt hver enkelt reagenskasset, diluent, lyseringsreagens og vaskereagens før bruk for å sikre at det ikke er tegn på lekkasje. Ikke bruk materialet til testing hvis det er tegn på lekkasje.

- **cobas® omni** Lysis Reagent inneholder guanidintiocyanat, et potensielt farlig kjemikalium. Unngå at reagensene kommer i kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Skyll umiddelbart med mye vann hvis slik kontakt oppstår, ellers kan det oppstå brannskade.
- **cobas® BKV**-testkit, **cobas® omni** MGP Reagent og **cobas® omni** Specimen Diluent inneholder natriumazid som konserveringsmiddel. Unngå at reagensene kommer i kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Skyll umiddelbart med mye vann hvis slik kontakt oppstår, ellers kan det oppstå brannskade. Fortynn med vann før du tørker opp eventuelt søl av reagensene.
- Sørg for at **cobas® omni** Lysis Reagent, som inneholder guanidintiocyanat, ikke kommer i kontakt med kaliumhypoklorittløsning. Denne blandingen kan produsere en svært giftig gass.
- Kast alle materialer som har vært i kontakt med prøver og reagenser, i henhold til nasjonalt, regionalt, og lokalt regelverk.

God laboratoriepraksis

- Ikke pipetter med munnen.
- Ikke spis, drikk eller røyk i angitte arbeidsområder.
- Bruk laboratoriehansker, laboratoriefrakk og vernebriller når du håndterer prøver og reagenser. Bytt hansker mellom håndtering av prøver og **cobas® BKV**-kit, EBV/BKV lav positiv kontroll (EBV/BKV L(+))C), EBV/BKV høy positiv kontroll (EBV/BKV H(+))C), **cobas®** Buffer Negative Control Kits og **cobas® omni**-reagenser for å unngå kontaminering. Unngå kontaminering av hanskene når prøver og kontroller håndteres.
- Vask hendene nøye etter håndtering av prøver og reagenser og etter at hanskene er tatt av.
- Rengjør og desinfiser alle arbeidsoverflater nøye med en nylaget løsning av 0,5 % natrium- eller kaliumhypokloritt i destillert eller deionisert vann. Tørk deretter av overflaten med 70 % etanol.
- Hvis det søles på **cobas®** 5800- eller **cobas®** 6800/8800-instrumentet, følg instruksjonene i brukerstøtten for **cobas®** 5800- eller **cobas®** 6800/8800-systemene for å sørge for tilstrekkelig rengjøring og dekontaminering av instrumentoverflatene.

Prøvetaking, transport og oppbevaring

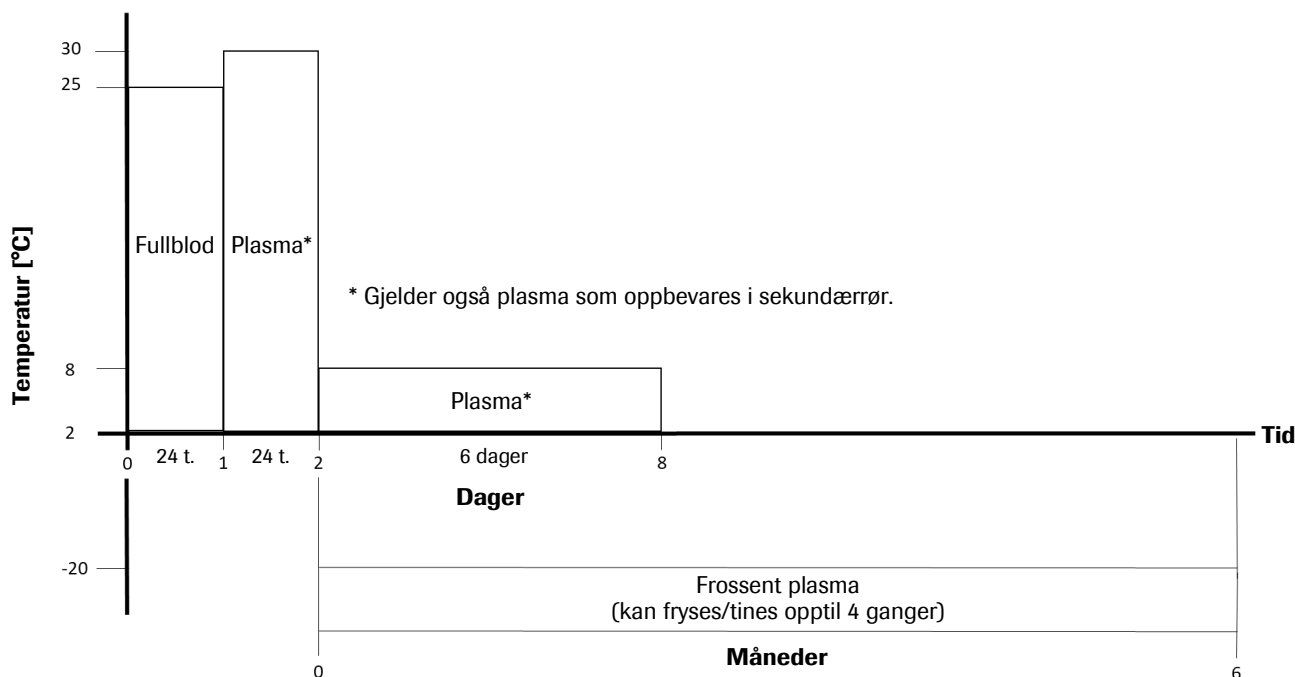
Merk: Alle prøver og kontroller må behandles som om de er potensielt infeksjøs.

EDTA-plasmaprøver

- Oppbevar alle prøver ved angitte temperaturer. Prøvens holdbarhet blir redusert ved høye temperaturer.
- Hvis det brukes prøver som har vært frosset i sekundærrør, plasser prøvene i romtemperatur (15–30 °C) til de er helt tint, og bland (f.eks. vortex i 3–5 sekunder) og sentrifuger deretter prøvene for å samle alt prøvemateriale i bunnen av røret.
- Fullblodprøver skal tas i BD Vacutainer® PPT™ plasmaprepareringsrør for molekulære diagnostiske testmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulant. Følg instruksjonene fra produsenten av prøvetakingsrøret. Se Figur 1.
- Fullblod som er tatt i BD Vacutainer® PPT™ plasmaprepareringsrør for molekulære diagnostiske testmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulant, kan oppbevares og/eller transporteres i opptil 24 timer ved 2–25 °C før plasmapreparering. Sentrifugering skal utføres i samsvar med produsentens instruksjoner.

- Etter separering kan plasmaprøver oppbevares i opptil 24 timer ved 2–30 °C i primær- eller sekundærrør, etterfulgt av:
 - Oppbevaring i primær- eller sekundærrør i opptil 6 dager ved 2–8 °C.
 - Oppbevaring i sekundærrør i opptil 6 måneder ved ≤ -20 °C.
- Plasmaprøver er stabile i opptil fire fryse-/tinesykluser når de fryses ved ≤ -20 °C.
- Hvis prøver skal sendes, må de pakkes og merkes i henhold til gjeldende nasjonalt og internasjonalt regelverk for transport av prøver og biologisk materiale.

Figur 1 Betingelser for oppbevaring av EDTA-plasmaprøver

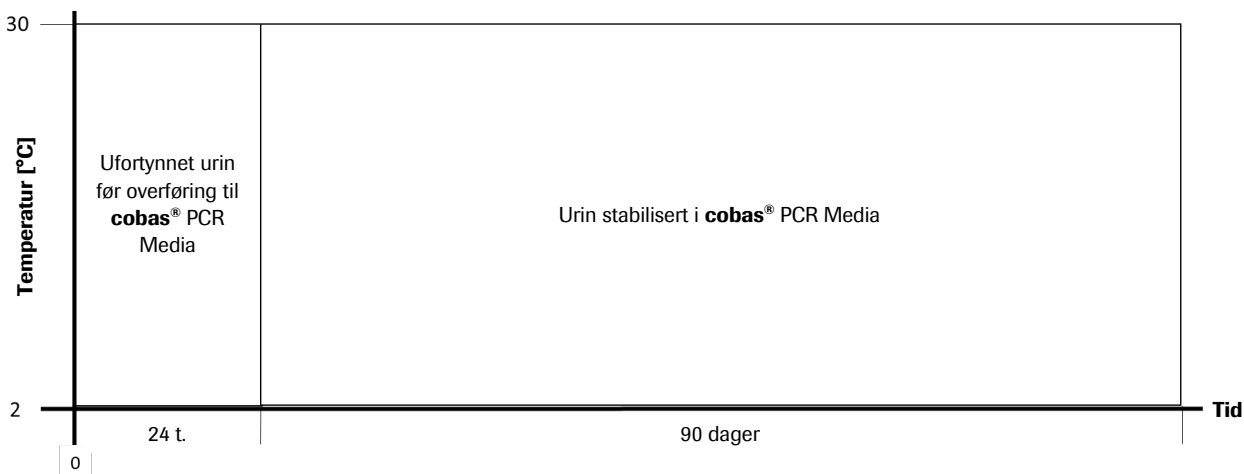


Urinprøver

- Bruk kun **cobas**® PCR Urine Sample Kit til å ta og stabilisere urinprøver for **cobas**® BKV. **cobas**® BKV er ikke validert for bruk med annet urinprøvetakingsutstyr eller andre medietyper. Hvis **cobas**® BKV brukes med annet urinprøvetakingsutstyr eller andre medietyper, kan det føre til falskt negative, falskt positive og/eller ugyldige resultater.
- Urinprøver må overføres til **cobas**® PCR Media-røret (stabilisert) straks. Hvis prøvene ikke kan overføres straks, kan de oppbevares ved 2 °C til 30 °C i opptil 24 timer. Når urinprøvene er stabilisert i **cobas**® PCR Media, kan prøvene oppbevares i opptil 90 dager ved 2–30 °C. Se Figur 2.
- Toppen av væsknivået for urinprøver før testing må vises mellom de to svarte strekene på etikettvinduet på **cobas**® PCR Media-røret. Hvis væsknivået er over eller under disse strekene, er ikke prøven tatt riktig og kan ikke brukes for testing.
- Hvis det ikke er nok urin (4,3 ml) til fortynning i **cobas**® PCR Urine Sample-røret, kan urinen fortynnes manuelt i **cobas**® PCR Media. Før testing med **cobas**® BKV må minst 0,5 ml ufortynnet urin fortynnes manuelt i **cobas**® PCR Media (i forholdet 1:1).

- For å unngå krysskontaminering av behandlede prøver skal det brukes andre korker for **cobas®** PCR Media-rør med en annen farge (nøytral: se avsnittet **Ytterligere materiell som kreves**) på prøver etter testing.
- Hvis ytterligere testing er påkrevd, må man sørge for at det er minst 1,2 ml prøve igjen i **cobas®** PCR Media-røret.
- Hvis prøver skal sendes, må de pakkes og merkes i henhold til gjeldende nasjonalt og internasjonalt regelverk for transport av prøver og biologisk materiale.

Figur 2 Betingelser for oppbevaring av urinprøver



Bruksanvisning

Merknader til prosedyren

- Ikke bruk **cobas®** BKV-reagenser, **cobas®** EBV/BKV Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit eller **cobas®** omni-reagenser etter de respektive utløpsdatoene.
- Forbruksartikler skal ikke gjenbrukes. De er kun for engangsbruk.
- **cobas®** BKV kan kjøres med et minimum prøvolum på 350 µl for EDTA-plasma (for arbeidsflyten med 200 µl prøve) og 550 µl for stabiliserte urinprøver (for arbeidsflyten med 400 µl prøve).
- Prøver skal være uten kork og skal lastes inn direkte i rack for prosessering på **cobas®** 5800-systemet.
- En enkelt kjøring kan ha hvilken som helst kombinasjon av prøve (plasma, stabilisert urin).

Kjøre **cobas®** BKV på **cobas®** 5800/6800/8800-systemene

- Betjening av instrumentene beskrives i detalj i brukerstøtten for **cobas®** 5800-systemet eller **cobas®** 6800/8800-systemene.
- Se brukerstøtten for **cobas®** 5800-systemet eller **cobas®** 6800/8800-systemene for informasjon om riktig vedlikehold av instrumenter.

- EDTA-plasmaprøver og stabiliserte urinprøver skal prosesseres med samme prøvetypevalg i brukergrensesnittet (UI) for **cobas®** BKV som er beskrevet i Figur 3, trinn 2 og beskrevet i Figur 4, trinn 1.
- Sørg for at strekkodeetikettene på prøverørene vises gjennom åpningene på siden av RD5- eller MPA-prøverackene. Se brukerstøtten for **cobas®** 5800-systemet eller **cobas®** 6800/8800-systemene for informasjon om riktig spesifikasjon av strekkodeetiketter og tilleggsinformasjon om innlasting av prøverør.

Figur 3 **cobas®** BKV-testprosedyre på **cobas®** 5800-systemet

1	<p>Logg på systemet. Trykk på Start for å klargjøre systemet.</p>
2	<p>Last prøver på systemet:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mat inn prøverack i systemet. • Systemet klargjør automatisk. • Bestill tester. <ul style="list-style-type: none"> ○ Velg "Plasma" for å bestille EDTA-plasmaprøver. ○ Velg "Urine" for å bestille urinprøver tatt i cobas® PCR Media. <ul style="list-style-type: none"> ▪ Ta av korken fra røret. ▪ Overfør røret direkte til racket.
3	<p>Fyll på reagenser og forbruksartikler som anvist av systemet:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mat inn testspesifikke reagenskasset(er). • Mat inn kontrollminirack. • Mat inn prosesseringsspisser. • Mat inn elueringsspisser. • Mat inn prosesseringsbrett. • Mat inn væskeavfallsplater. • Mat inn mikrobrønnplater. • Mat inn MGP-kassett. • Etterfyll Specimen Diluent. • Etterfyll Lysis Reagent. • Etterfyll Wash Reagent.
4	<p>Start analyseserien ved å velge knappen "Start processing" i brukergrensesnittet. Alle etterfølgende analyseserier starter automatisk hvis de ikke utsettes manuelt.</p>
5	<p>Gjennomgå og eksportere resultater.</p>
6	<p>Ta ut og sett kork på eventuelle prøverør som oppfyller minstekravene til volum, ved behov, og oppbevar dem for fremtidig bruk.</p> <p>Rengjør instrumentet:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mat ut tomme kontrollminirack. • Mat ut tomme testspesifikke reagenskassetter. • Tøm mikrobrønnplateskuffen. • Tøm væskeavfall. • Tøm fastavfall.

Figur 4 cobas® BKV-testprosedyre på cobas® 6800/8800-systemene

1	<p>Logg på systemet. Trykk på Start for å klargjøre systemet. Bestill tester:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Velg "Plasma" for å bestille EDTA-plasmaprøver. • Velg "Urine" for å bestille urinprøver tatt i cobas® PCR Media.
2	<p>Fyll på reagenser og forbruksartikler som anvist av systemet:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mat inn testspesifikke reagenskassetter. • Mat inn kontrollkassetter. • Mat inn pipettespisser. • Mat inn prosesseringsbrett. • Mat inn MGP-reagenser. • Mat inn mikrobrønnplater. • Etterfyll Specimen Diluent. • Etterfyll Lysis Reagent. • Etterfyll Wash Reagent.
3	<p>Last prøver på systemet:</p> <ul style="list-style-type: none"> • For primære urinprøver tatt i cobas® PCR Media. <ul style="list-style-type: none"> o Ta av korken fra røret. o Overfør røret direkte til racket. • Mat inn prøveracket og racket for tilstoppede spisser i prøveforsyningsmodulen. • Kontroller at prøvene er godtatt i overføringsmodulen.
4	<p>Start kjøringen ved å velge knappen "Start manually" (Start manuelt) i brukergrensesnittet, eller vent til instrumentet starter automatisk etter 120 minutter eller hvis analyseserien er full.</p>
5	<p>Gjennomgå og eksportere resultater.</p>
6	<p>Ta ut og sett kork på eventuelle prøverør som oppfyller minstekravene til volum, ved behov, og oppbevar dem for fremtidig bruk.</p> <p>Rengjør instrumentet:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mat ut tomme kontrollkassetter. • Tøm mikrobrønnplateskuffen. • Tøm væskeavfall. • Tøm fastavfall.

Resultater

cobas® 5800/6800/8800-systemene beregner automatisk BKV-DNA-konsentrasjonen for prøver og kontroller. BKV-DNA-konsentrasjonen uttrykkes i internasjonale enheter per milliliter (IU/ml).

Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 2.0 eller nyere

- Én cobas® Buffer negative kontroll [(-) Ctrl] og to cobas® EBV/BKV positive kontroller, en lav positiv kontroll [EBV/BKV L (+) C] og en høy positiv kontroll [EBV/BKV H (+) C] behandles minst hver 72. time og med hver nye kitlot. Positive og/eller negative kontroller kan planlegges oftere basert på laboratorierutiner og/eller lokale forskrifter.
- Resultatene av kontrollene vises i appen “Controls”.
- I programvaren og/eller rapporten må det kontrolleres for flagg for å sikre at de tilsvarende testresultatene er gyldige (se brukerstøtten for x800 Data Manager for “Liste over flaggkoder”).
- Kontroller er merket med “Valid” i kolonnen “Control result” hvis det respektive målet for kontrollene er rapportert som gyldige. Kontroller er merket med “Invalid” i kolonnen “Control result” hvis det respektive målet for kontrollen er rapportert som ugyldig.
- Kontroller merket med “Invalid” har et flagg i kolonnen “Flags”. Det står mer informasjon om hvorfor kontrollen er rapportert som ugyldig, inkludert flagginformasjon, i detaljvisningen.
- Hvis en av kontrollene er ugyldig, er gjentatt testing av alle kontrollene og alle tilhørende prøver påkrevd.

Validering av resultater utføres automatisk av instrumentprogramvaren basert på kontrollresultater.

MERK: cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 2.0 eller nyere, vil leveres med standardinnstillingen for kjøring av et sett kontroller (positiv og negativ) med hver kjøring, men kan konfigureres til å kjøres sjeldnere, maksimalt hver 72. time basert på laboratorierutiner og/eller lokale forskrifter. Kontakt din lokale Roche-servicetekniker og/eller Roche teknisk brukerstøtte for kunder for å få mer informasjon.

Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater fra på cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 1.4

- Én cobas® Buffer negativ kontroll [(-) Ctrl] og to cobas® EBV/BKV positive kontroller, en lav positiv kontroll [EBV/BKV L (+) C] og en høy positiv kontroll [EBV/BKV H (+) C] behandles med hver analyseserie.
- Sjekk for flagg og deres tilhørende resultater i programvaren og/eller rapporten for å sikre at analyseserien er gyldig.
- Alle flagg beskrives i brukerstøtten for cobas® 6800/8800-systemene.
- Analyseserien er gyldig hvis det ikke vises noen flagg for noen av kontrollene. Hvis analyseserien er ugyldig, må hele analyseserien testes på nytt.

Validering av resultater utføres automatisk av instrumentprogramvaren basert på kontrollresultater.

Kontrollflagg på cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 1.4

For en gyldig analyseserie, sjekk hver enkelt prøve for flagg i cobas® 5800 og cobas® 6800/8800-systemenes programvare og/eller rapporter. Resultatene skal tolkes på følgende måte:

- En gyldig analyseserie kan omfatte både gyldige og ugyldige prøveresultater

Tabell 14 Kontrollflagg for negative og positive kontroller

Negativ kontroll	Flagg	Resultat	Tolkning
(-) Ctrl	Q02 (Kontrollserie ikke godkjent)	Invalid	Et ugyldig resultat, eller det beregnede titerresultatet for den negative kontrollen er ikke negativt.
Positiv kontroll	Flagg	Resultat	Tolkning
EBV/BKV L (+) C	Q02 (Kontrollserie ikke godkjent)	Invalid	Et ugyldig resultat eller beregnet titerresultat for den lave positive kontrollen er ikke innenfor akseptområdet.
EBV/BKV H (+) C	Q02 (Kontrollserie ikke godkjent)	Invalid	Et ugyldig resultat eller beregnet titerresultat for den høye positive kontrollen er ikke innenfor akseptområdet.

Tolkning av resultater på for cobas® 5800/6800/8800-systemene

For en gyldig analyseserie, sjekk hver enkelt prøve for flagg i cobas® 5800 og cobas® 6800/8800-systemenes programvare og/eller rapporter. Resultatene skal tolkes på følgende måte:

- En gyldig analyseserie kan omfatte både gyldige og ugyldige prøveresultater.

Tabell 15 Måleresultater for tolkning av individuelle måleresultater

Resultater	Tolkning
Target Not Detected	BKV-DNA ikke detektert. Rapporter resultatene som "BKV ikke detektert".
< Titer Min ^a	Beregnet titer er under analysens nedre kvantiteringsgrense (LLOQ). Rapporter resultatene som "BKV detektert, mindre enn (Titer Min)". EDTA-plasma Titer Min = 21,5 IU/ml Urin Titer Min = 200 IU/ml
Titer	Beregnet titer er innenfor analysens linearitetsområde – større enn eller lik Titer Min og mindre enn eller lik Titer Max. Rapporter resultatene som "(Titer) av BKV detektert".
> Titer Max ^b	Beregnet titer er over analysens øvre kvantiteringsgrense (ULOQ). Rapporter resultatene som "BKV detektert, større enn (Titer Max)". EDTA-plasma og urin Titer Max = 1,0E+08 IU/ml

^a Prøveresultater "< Titer Min" (mål påvist < LLOQ) skal tolkes i sammenheng med andre kliniske data og skal ikke utgjøre eneste grunnlag for behandlingsbeslutninger.

^b Prøveresultat "> Titer Max" henviser til BKV-positive prøver som er detektert med titre over den øvre kvantiteringsgrensen (ULOQ). Hvis det er ønskelig med et kvantitativt resultat for EDTA-plasmaprøver, kan den opprinnelige prøven fortynnes med BKV-negativt humant EDTA-plasma og analyseres på nytt. Multipliser det rapporterte resultatet med fortynningsfaktoren.

Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 2.0 eller nyere

Resultatene av prøvene vises i appen “Results” i programvaren.

For en gyldig kontrollanalyseserie, sjekk hver enkelt prøve for flagg i programvaren og/eller rapporten. Resultatene skal tolkes på følgende måte:

- Prøver som tilhører en gyldig kontrollanalyseserie, vises som “Valid” i kolonnen “Control result” hvis de respektive kontrollresultatene rapporteres som gyldige. Prøver som tilhører en mislykket kontrollanalyseserie, vises som “Invalid” i kolonnen “Control result” hvis de respektive kontrollresultatene rapporteres som ugyldige.
- Hvis de tilhørende kontrollene for et prøveresultat er ugyldige, legges det til et spesifikt flagg for prøveresultatet som følger:
 - Q05D: Mislykket resultatvalidering på grunn av en ugyldig positiv kontroll
 - Q06D: Mislykket resultatvalidering på grunn av en ugyldig negativ kontroll
- Verdiene i kolonnen “Results” for enkelte prøveresultater skal tolkes som vist i Tabell 15 over.
- Hvis ett eller flere prøvemål er merket med “Invalid”, viser programvaren et flagg i kolonnen “Flag”. Det står mer informasjon om hvorfor ett eller flere prøvemål er rapportert som ugyldige, inkludert flagginformasjon, i detaljvisningen.

Tolkning av resultater på cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 1.4

For en gyldig analyseserie, sjekk hver enkelt prøve for flagg i programvaren og/eller rapporten. Resultatene skal tolkes på følgende måte:

- Prøver er merket med “Yes” i kolonnen “Valid” hvis alle bestilte målresultater rapporteres som gyldige. For prøver som er merket med “No” i kolonnen “Valid”, kan det være nødvendig med ytterligere tolkning og handling.
- Verdiene for enkelte prøveresultater skal tolkes som vist i Tabell 15 over.

Testens begrensninger

- **cobas**® BKV er kun evaluert for bruk i kombinasjon med **cobas**® EBV/BKV Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas**® **omni** MGP Reagent, **cobas**® **omni** Lysis Reagent, **cobas**® **omni** Specimen Diluent og **cobas**® **omni** Wash Reagent for bruk på **cobas**® 5800/6800/8800-systemene.
- Pålitelige resultater avhenger av riktige prosedyrer for prøvetaking, oppbevaring og håndtering av prøver.
- Denne testen er kun validert for bruk med EDTA-plasma og stabilisert urin. Testing av andre prøvematerialer med **cobas**® BKV kan føre til unøyaktige resultater. Målinger av DNA-nivå i plasma og stabilisert urin er ikke direkte sammenlignbare med hverandre eller med slike målinger av andre prøvetyper.
- Kvantitering av BKV-DNA kan påvirkes av prøvetakingsmetoder, pasientfaktorer (dvs. alder, symptomer) og/eller infeksjonsstadium.
- Nedbrytning av BKV-DNA i uforynnet urin kan påvirke kvantifisering.¹⁷ Urin må overføres til **cobas**® PCR Media for å oppnå prøvestabilitet.
- Naturlig kvantitativ variabilitet for BKV-DNA i urin er observert i prøvestabilitetsstudier ved ulike prøvetakingstidspunkter (uforynnet urin) og ulike alikvoter av samme prøve (uforynnet urin og urin stabilisert i **cobas**® PCR Media).
- Gitt disse begrensningene skal BKV-DNA-resultater for urin tolkes med forsiktighet og i sammenheng med kliniske funn og andre laboratoriefunn og ikke brukes som eneste grunnlag for behandlingsavgjørelser.
- Urin kan inneholde høye nivåer av BKV-DNA, med risiko for medrivning av kontaminering.¹⁸
- Som med alle molekylære tester kan mutasjoner i målregionene til **cobas**® BKV påvirke primer- og/eller probe-binding, noe som kan føre til underkvantitering av viruset eller manglende evne til å detektere viruset.
- På grunn av iboende forskjeller mellom teknologier anbefales det at brukerne utfører metodekorrelasjonsstudier i laboratoriet for å bestemme de teknologiske forskjellene før en ny teknologi tas i bruk. Brukere skal følge arbeidsstedets egne retningslinjer/prosedyrer.
- **cobas**® BKV er ikke beregnet for bruk som screeningtest for tilstedeværelse av BKV i blod eller blodprodukter.

Evaluering av analytisk ytelse

Systemekvivalens

Systemekvivalens for cobas® 5800-, cobas® 6800- og cobas® 8800-systemene ble vist via ytelsesstudier. Resultatene som presenteres i bruksanvisningen, støtter ekvivalent ytelse for alle systemer.

Viktige ytelseskarakteristika for EDTA-plasmaprøvetype

Deteksjonsgrense (LoD) med WHO's internasjonale standard

Deteksjonsgrensen for cobas® BKV med WHO's første internasjonale standard ble bestemt ved å analysere serielle fortyndinger av 1st WHO BKV International Standard anskaffet fra NIBSC (NIBSC 14/212), i BKV-negativt humant EDTA-plasma. Paneler med 6 konsentrasjonsnivåer pluss en blank ble testet med tre loter av cobas® BKV-reagens, flere kjøring, dager, brukere og instrumenter.

Resultatene for EDTA-plasma vises i Tabell 16 til Tabell 18. Studien viser at med den minst sensitive loten er konsentrasjonen der PROBIT forventer en treffrate på 95 %, 21,5 IU/ml, med et 95 % konfidensintervall på 16,3–32,4 IU/ml i EDTA-plasma. Den laveste konsentrasjonen med en treffrate på ≥ 95 % er 19,0 IU/ml i EDTA-plasma.

Tabell 16 Deteksjonsgrense i EDTA-plasma, lot 1

Innmatet titerkonsentrasjon (BKV-DNA IU/ml)	Antall gyldige replikater	Antall positive	Treffrate i %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	46	73,0
4,75	63	36	57,1
2,38	63	23	36,5
0	62	0	0,0
LoD med PROBIT ved 95 % treffrate	21,5 IU/ml 95 % konfidensintervall: 16,3–32,4 IU/ml		

Tabell 17 Deteksjonsgrense i EDTA-plasma, lot 2

Innmatet titerkonsentrasjon (BKV-DNA IU/ml)	Antall gyldige replikater	Antall positive	Treffrate i %
80,0	62	62	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	61	96,8
9,5	63	48	76,2
4,75	63	34	54,0
2,38	62	23	37,1
0	62	0	0,0
LoD med PROBIT ved 95 % treffrate	19,7 IU/ml 95 % konfidensintervall: 15,0–29,2 IU/ml		

Tabell 18 Deteksjonsgrense i EDTA-plasma, lot 3

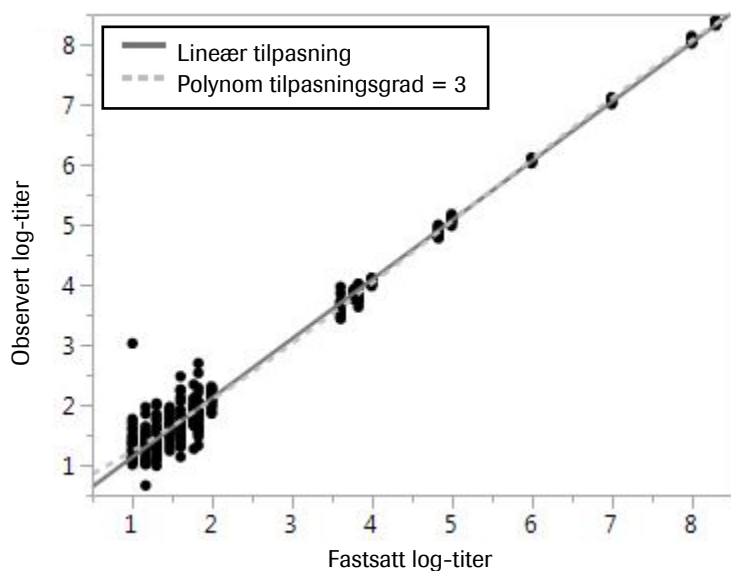
Innmatet titerkonsentrasjon (BKV-DNA IU/ml)	Antall gyldige replikater	Antall positive	Treffrate i %
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	50	79,4
4,75	63	35	55,6
2,38	63	22	35,0
0	63	0	0,0
LoD med PROBIT ved 95 % treffrate	19,3 IU/ml 95 % konfidensintervall: 14,8–28,5 IU/ml		

Lineært område

Lineariteten for cobas® BKV ble evaluert ved bruk av en fortyningsserie som besto av 18 panelprøver med DNA i BKV-undergruppe Ib over hele analysens lineære område. Et høytitret lambda-DNA-konsentrat med høy titer ble brukt til å klargjøre 11 panelprøver over hele det lineære området. En klinisk prøve ble brukt til å klargjøre syv panelprøver som dekket de mellomliggende og lavere nivåene av det lineære området.

Hver panelprøve ble testet i 36 replikater over tre loter med cobas® BKV-reagenser, og resultatene av studien vises i Figur 5.

cobas® BKV viste seg å være lineær fra 1,01E+01 til 1,97E+08 IU/ml, og viser et absolutt avvik fra den bedre tilpassede ikke-lineære regresjonen på mindre enn eller lik $\pm 0,1 \log_{10}$ i humant EDTA-plasma (se Figur 5). Over linearitetsområdet er testens nøyaktighet innenfor $\pm 0,2 \log_{10}$.

Figur 5 Bestemmelse av lineært område i EDTA-plasma

Presisjon innen laboratoriet

Presisjonen til cobas® BKV ble bestemt ved å analysere serielle fortyngninger av høytitret BKV-DNA (undergruppe Ib) i BKV-negativt EDTA-plasma. Fem fortyngningsnivåer ble testet i 72 replikater for hvert nivå over tre loter av cobas® BKV-reagenser ved bruk av fire instrumenter og to brukere over 12 dager. Hver prøve ble kjørt gjennom hele cobas® BKV-prosedyren på helautomatiske cobas® 6800/8800-systemer. Derfor representerer presisjonen som er vist her, alle aspekter av testprosedyren. Resultatene vises i Tabell 19.

cobas® BKV viste høy presisjon for tre loter av reagenser som ble testet over et konsentrasjonsområde på $9,83E+01$ IU/ml til $9,83E+05$ IU/ml.

Tabell 19 Presisjon innen laboratoriet for cobas® BKV*

Nominell konsentrasjon [IU/ml]	Tilordnet konsentrasjon [IU/ml]	EDTA-plasma			
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle loter
		SD	SD	SD	Sammenslåtte SD
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

* Titerresultater anses å være log-normalfordelt og er analysert etter \log_{10} -transformering. Kolonner for standardavvik (SD) viser totalt logtransformert titer for hver av de tre reagenslotene.

Verifisering av subtype

Ytelsen til cobas® BKV på BKV-subtyper I (med undergrupper Ia og Ic), II, III og IV ble evaluert ved:

- Verifisering av deteksjonsgrensen
- Verifisering av det lineære området

Verifisering av deteksjonsgrense for subtyper I (med undergrupper Ia og Ic), II, III og IV

BKV-DNA for de fem forskjellige subtypene/undergruppene (Ia, Ic, II, III og IV) ble fortynnet til tre ulike konsentrasjonsnivåer i BKV-negativt EDTA-plasma. Treffraten ble bestemt med 63 replikater for hvert nivå. Testingen ble utført med tre loter av cobas® BKV-reagenser, flere kjøringer, dager, brukere og instrumenter. Disse resultatene bekrefter at cobas® BKV detekterte BKV-DNA for fem forskjellige subtyper/undergrupper i konsentrasjoner på 21,5 IU/ml med en treffrate på ≥ 95 %.

Verifisering av lineært område for subtyper I (med undergrupper Ia og Ic), II, III og IV

Fortynningsserien brukt ved verifisering av linearitetsstudien for subtype/undergruppe for cobas® BKV, besto av åtte panelprøver over hele det lineære området til analysen. Testingen ble utført med tre loter av cobas® BKV-reagenser. 12 replikater per nivå ble testet i EDTA-plasma.

Det lineære området for cobas® BKV ble verifisert for alle fem subtyper/undergrupper (Ia, Ic, II, III og IV).

Spesifisitet

Spesifisiteten for cobas® BKV ble bestemt ved å analysere BKV-negative EDTA-plasmaprøver fra individuelle donorer. 104 individuelle EDTA-plasmaprøver ble testet med tre loter av cobas® BKV-reagenser. Alle prøvene testet negativt for BKV-DNA. I testpanelet var spesifisiteten for cobas® BKV 100 % (ensidig nedre 95 % konfidensintervall: 97,16 %).

Analytisk spesifisitet

Den analytiske spesifisiteten for cobas® BKV ble evaluert ved å teste et panel med mikroorganismer til en konsentrasjon på 1,00E+06 enheter/ml (CFU/ml, celler/ml, CCU/ml, IFU/ml) for bakterier og gjær, og mellom 1,00E+05 enheter/ml og 1,00E+06 enheter/ml (kopier/ml, TCID₅₀/ml, IU/ml, celler/ml) for virus. Mikroorganismer ble fortynnet i BKV-DNA-negativt humant EDTA-plasma og humant EDTA-plasma med (100 IU/ml) BKV-DNA. De spesifikke organismene som ble testet, vises i Tabell 20. Hver prøve ble testet i tre replikater. Ingen av non-BKV-patogenene interfererte med testens ytelse ved konsentrasjonene som ble testet. Det ble oppnådd negative resultater med cobas® BKV for alle mikroorganismeprøver uten mål-BKV, og det ble oppnådd positive resultater for alle mikroorganismeprøver med mål-BKV. I tillegg var gjennomsnittlig log₁₀ titer for hver av de positive BKV-prøvene som inneholdt potensielt kryssreagerende organismer, innenfor $\pm 0,5$ log₁₀ av gjennomsnittlig log₁₀ titer for den respektive spiked positive kontrollen.

Tabell 20 Mikroorganismer som ble testet for kryssreaktivitet

Virus	Bakterier	Gjærsopp
Adenovirus type 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Cytomegalovirus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Epstein-Barr-virus	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitt B-virus	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Hepatitt C-virus	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Herpes simplex-virus type 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Herpes simplex-virus type 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Humant herpesvirus type 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Humant herpesvirus type 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Humant herpesvirus type 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Humant immunsviktvirus 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Humant immunsviktvirus 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Humant papillomavirus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
JC-virus	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovirus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Simianvirus 40	-	-
Varicella-Zoster-virus	-	-

Analytisk spesifisitet – interfererende substanser

Forhøyede nivåer av triglycider (33 g/l), konjugert bilirubin (0,2 g/l), ukonjugert bilirubin (0,2 g/l), albumin (60 g/l), hemoglobin (2 g/l) og humant DNA (2 mg/l) i prøver ble testet ved nærvær (100 IU/ml) og fravær av BKV-DNA. De testede endogene interfererende substansene viste seg ikke å interferere med testens ytelse for cobas® BKV.

I tillegg ble legemiddelkomponentene som er oppført i Tabell 21, testet ved tre ganger C_{max} ved tilstedeværelse og fravær av BKV-DNA.

Alle potensielt interfererende substanser har vist seg ikke å interferere med testens ytelse. Det ble oppnådd negative resultater med cobas® BKV for alle prøver uten mål-BKV, og det ble oppnådd positive resultater for alle prøver med mål-BKV. I tillegg var gjennomsnittlig \log_{10} titer for hver av de positive BKV-prøvene som inneholdt potensielt interfererende substanser, innenfor $\pm 0,5 \log_{10}$ av gjennomsnittlig \log_{10} titer for den respektive spiked positive kontrollen.

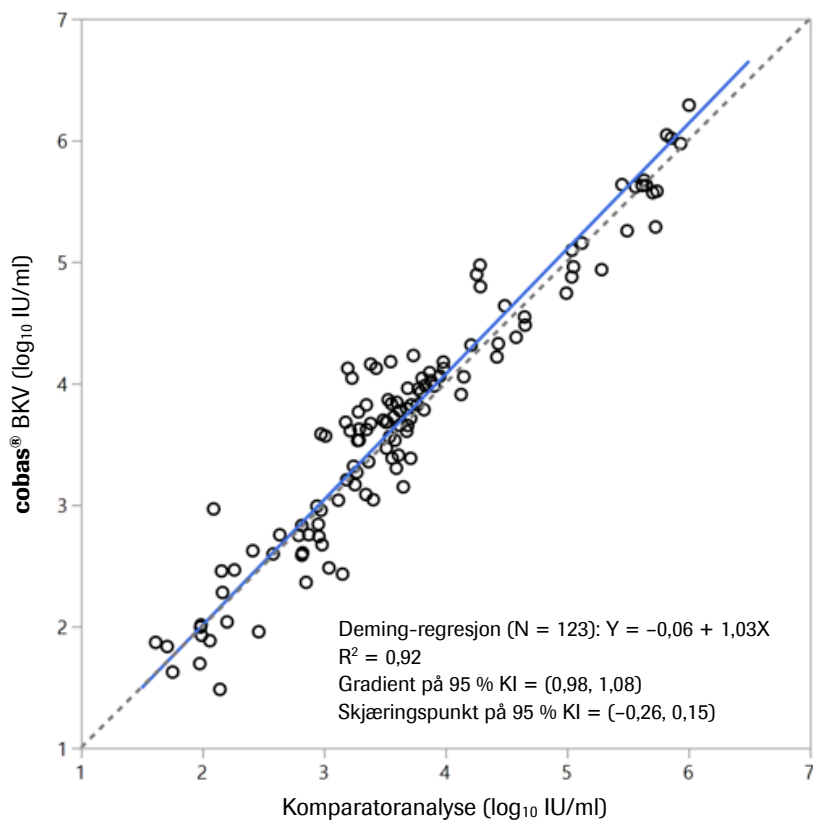
Tabell 21 Legemiddelkomponenter som ble testet for interferens med kvantitering av BKV-DNA med cobas® BKV

Legemiddelklasse	Generisk legemiddelnavn	
Antimikrobielle midler	Cefotetan	Sulfametoxazol
	Klavulanatkalium	Ticarcillindinatrium
	Flukonazol	Trimetoprim
	Piperacillin	Vancomycin
	Tazobaktamnatrium	Micafungin
Preparater for behandling av herpesvirus	Ganciklovir	Cidofovir
	Valganciklovir	Foscarnet
	Acyklovir	Letermovir
Immundempende legemidler	Azatioprin	Prednison
	Cyklosporin	Sirolimus
	Everolimus	Takrolimus
	Mykofenolatmofetil	Mykofenolsyre

Metodekorrelasjon

Ytelsen til cobas® BKV ble vurdert mot en komparatoranalyse ved å analysere EDTA-plasmaprøver fra BKV-smittede pasienter. EDTA-plasmaprøver innenfor kvantiteringsområdet for begge testene ble testet som enkle replikater. Deming-regresjonsanalyse ble utført.

Resultatene av Deming-regresjonsanalysen vises i Figur 6.

Figur 6 Regresjonsanalyse av **cobas®** BKV sammenlignet med komparatoranalyse

Systemfeil

Systemfeilfrekvensen ble bestemt for **cobas®** BKV ved å teste 100 replikater av EDTA-plasma tilsatt en BKV-positiv klinisk prøve. Disse prøvene ble testet i en konsentrasjon på $3 \times \text{LoD}$.

Resultatene av denne studien fastslo at alle replikater var gyldige og positive for BKV-målet, noe som ga en total systemfeilfrekvens på 0 % (ensidig øvre 95 % konfidensintervall 2,95 %).

Krysskontaminering

Krysskontamineringsfrekvensen for **cobas®** BKV ble bestemt ved å teste 240 replikater av en BKV-negativ matriksprøve og 225 replikater av en høytitret BKV-DNA-prøve på ca. $2,00\text{E}+07$ IU/ml. Det ble til sammen utført fem analyseserier med positive og negative prøver i en sjakkbrettkonfigurasjon.

Alle de 240 replikatene av den negative prøven var negative, noe som ga en krysskontamineringsfrekvens på 0 % (ensidig øvre 95 % konfidensintervall 1,24 %).

Viktige ytelseskarakteristika for urinprøvetype

Deteksjonsgrense (LoD) med WHO's internasjonale standard

Deteksjonsgrensen for cobas® BKV med WHO's internasjonale standard ble bestemt ved å analysere serielle fortyntninger av 1st WHO BKV International Standard anskaffet fra NIBSC (NIBSC 14/212), i en pool av BKV-negativ human urin stabilisert i cobas® PCR Media. Paneler med 6 konsentrasjonsnivåer pluss en blank ble testet med tre loter av cobas® BKV-reagens, flere kjøring, dager, brukere og instrumenter.

Resultatene for sammenslåtte prøver av urin stabilisert i cobas® PCR Media vises i Tabell 22 til Tabell 24. Studien viser at med den minst sensitive loten er konsentrasjonen der PROBIT forventer en treffrate på 95 %, 12,2 IU/ml, med et 95 % konfidensintervall på 9,2–18,3 IU/ml i uforynnet urin. Den laveste konsentrasjonen med en treffrate på ≥ 95 % er 10,0 IU/ml i uforynnet urin.

Tabell 22 Deteksjonsgrense i urin, lot 1

Innmatet titerkonsentrasjon (BKV-DNA IU/ml)*	Antall gyldige replikater	Antall positive	Treffrate i %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	60	95,2
5,0	63	47	74,6
2,5	63	25	39,7
1,25	63	26	41,3
0	63	0	0,0
LoD med PROBIT ved 95 % treffrate	12,2 IU/ml 95 % konfidensintervall: 9,2–18,3 IU/ml		

* Urinprøvene som ble testet, ble stabilisert i cobas® PCR Media. Innmatet titerkonsentrasjon brukt for beregning basert på uforynnet urin.

Tabell 23 Deteksjonsgrense i urin, lot 2

Innmatet titerkonsentrasjon (BKV-DNA IU/ml)*	Antall gyldige replikater	Antall positive	Treffrate i %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	60	95,2
5,0	63	42	66,7
2,5	63	32	50,8
1,25	63	17	27,0
0	63	0	0,0
LoD med PROBIT ved 95 % treffrate	11,9 IU/ml 95 % konfidensintervall: 9,2–17,3 IU/ml		

* Urinprøvene som ble testet, ble stabilisert i cobas® PCR Media. Innmatet titerkonsentrasjon brukt for beregning basert på uforynnet urin.

Tabell 24 Deteksjonsgrense i urin, lot 3

Innmatet titerkonsentrasjon (BKV-DNA IU/ml)*	Antall gyldige replikater	Antall positive	Treffrate i %
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	61	96,8
5,0	63	46	73,0
2,5	63	39	61,9
1,25	63	19	30,2
0	63	0	0,0
LoD med PROBIT ved 95 % treffrate	10,1 IU/ml 95 % konfidensintervall: 7,8–14,7 IU/ml		

* Urinprøvene som ble testet, ble stabilisert i cobas® PCR Media. Innmatet titerkonsentrasjon brukt for beregning basert på uforynnnet urin.

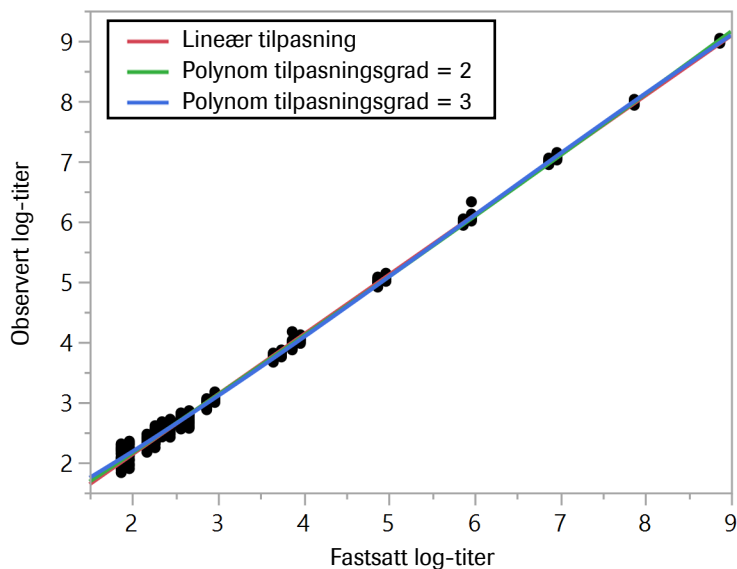
Lineært område

Lineariteten for cobas® BKV ble evaluert ved bruk av en fortynningsserie som besto av 10 panelprøver ved bruk av en klinisk prøve (BKV-undergruppe Ib) over hele analysens lineære område. Et høytitret lambda-DNA-konsentrat med høy titer ble brukt til å klargjøre 12 panelprøver over hele det lineære området.

Hver panelprøve ble testet i 36 replikater over tre loter med cobas® BKV-reagenser, og resultatene av studien vises i Figur 7.

cobas® BKV viste seg å være lineær fra $7,41E+01$ IU/ml til $7,41E+08$ IU/ml, og viser et absolutt avvik fra den bedre tilpassede ikke-lineære regresjonen på mindre enn eller lik $\pm 0,1 \log_{10}$ i en samlet prøve av urin stabilisert i cobas® PCR Media (se Figur 7). Over linearitetsområdet er testens nøyaktighet innenfor $\pm 0,2 \log_{10}$.

Figur 7 Bestemmelse av lineært område i urin



Presisjon innen laboratoriet

Presisjonen til cobas® BKV ble bestemt ved å analysere serielle fortyntninger av høytitret BKV-DNA (undergruppe Ib) i BKV-negativ urin stabilisert i cobas® PCR Media. Fem fortyntningsnivåer ble testet i 72 replikater for hvert nivå over tre loter av cobas® BKV-reagenser ved bruk av to instrumenter og to brukere over 12 dager. Hver prøve ble kjørt gjennom hele cobas® BKV-prosedyren på helautomatiske cobas® 6800/8800-systemer. Derfor representerer presisjonen som er vist her, alle aspekter av testprosedyren. Resultatene vises i Tabell 25.

cobas® BKV viste høy presisjon for tre loter av reagenser som ble testet over et konsentrasjonsområde på 7,41E+02 IU/ml til 7,41E+05 IU/ml.

Tabell 25 Presisjon innen laboratoriet for cobas® BKV*

Nominell konsentrasjon [IU/ml]	Tilordnet konsentrasjon [IU/ml]	Urin stabilisert i cobas® PCR Media			
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle loter
		SD	SD	SD	Sammenslåtte 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

* Titerresultater anses å være log-normalfordelt og er analysert etter log₁₀-transformering. Kolonner for standardavvik (SD) viser totalt logtransformert titer for hver av de tre reagenslotene.

Verifisering av subtype

Ytelsen til cobas® BKV på BKV-subtyper I (med undergrupper Ia og Ic), II, III og IV ble evaluert ved:

- Verifisering av deteksjonsgrensen
- Verifisering av det lineære området

Verifisering av deteksjonsgrense for subtyper I (med undergrupper Ia og Ic), II, III og IV

BKV-DNA for de fem forskjellige subtypene/undergruppene (Ia, Ic, II, III og IV) ble fortyntet til tre ulike konsentrasjonsnivåer i en sammenslåing av BKV-negativ urin stabilisert i cobas® PCR Media. Treffraten ble bestemt med 63 replikater for hvert nivå. Testingen ble utført med tre loter av cobas® BKV-reagenser, flere kjøring, dager, brukere og instrumenter. Disse resultatene bekrefter at cobas® BKV detekterte BKV-DNA for fem forskjellige subtyper/undergrupper i konsentrasjoner på 12,2 IU/ml med en treffrate på ≥ 95 %.

Verifisering av lineært område for subtyper I (med undergrupper Ia og Ic), II, III og IV

Fortynningsserien brukt ved verifisering av linearitetsstudien for subtype/undergruppe for cobas® BKV, besto av åtte panelprøver over hele det lineære området til analysen. Testingen ble utført med tre loter av cobas® BKV-reagenser. 12 replikater per nivå ble testet i urin stabilisert i cobas® PCR Media.

Det lineære området for cobas® BKV ble verifisert for alle fem subtyper/undergrupper (Ia, Ic, II, III og IV).

Spesifisitet

Spesifisiteten for cobas® BKV ble bestemt ved å analysere BKV-negative urinprøver stabilisert i cobas® PCR Media fra individuelle donorer. Ett hundre individuelle urinprøver ble testet med tre loter av cobas® BKV-reagenser. Alle prøvene testet negativt for BKV-DNA. I testpanelet var spesifisiteten for cobas® BKV 100 % (ensidig nedre 95 % konfidensintervall: 97,05 %).

Analytisk spesifisitet

Den analytiske spesifisiteten for cobas® BKV ble evaluert ved å teste et panel med mikroorganismer til en konsentrasjon på mellom 1,00E+06 enheter/ml og 2,00E+06 enheter/ml (CFU/ml, celler/ml, CCU/ml, IFU/ml) for bakterier og gjær, og til 1,00E+05 enheter/ml (kopier/ml, TCID₅₀/ml, IU/ml, celler/ml) for virus. Mikroorganismer ble fortynt i BKV-DNA-negativ urin og human urin med (600 IU/ml) BKV-DNA. De spesifikke organismene som ble testet, vises i Tabell 26. Hver prøve ble testet i tre replikater. Ingen av non-BKV-patogenene interfererte med testens ytelse ved konsentrasjonene som ble testet. Det ble oppnådd negative resultater med cobas® BKV for alle mikroorganismep prøver uten mål-BKV, og det ble oppnådd positive resultater for alle mikroorganismep prøver med mål-BKV. I tillegg var gjennomsnittlig log₁₀ titer for hver av de positive BKV-prøvene som inneholdt potensielt kryssreagerende organismer, innenfor ±0,5 log₁₀ av gjennomsnittlig log₁₀ titer for den respektive spikedede positive kontrollen.

Tabell 26 Mikroorganismer som ble testet for kryssreaktivitet

Virus	Bakterier	Bakterier	Gjærsopp
Herpes simplex-virus 2	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Humant papillomavirus 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>	-	-

Analytisk spesifisitet – interfererende substanser

Forhøyede nivåer av albumin (0,5 % vekt/volum), konjugert bilirubin (1 % vekt/volum), glukose (1 % vekt/volum), mononukleære celler fra perifert blod (1,00E+06 celler/ml), mukus (1 mukuspenselprøve per 4,3 ml prøve), lav pH-verdi (pH 4), høy pH-verdi (pH 9), sæd (1 penselprøve dyppet i sæd per 4,3 ml prøve), natrium (300 mEq/l) og fullblod (10 % volum/volum) i prøver ble testet ved tilstedeværelse (600 IU/ml) og fravær av BKV-DNA. De testede endogene interfererende substansene viste seg ikke å interferere med testens ytelse for **cobas®** BKV.

I tillegg ble legemiddelkomponentene som er oppført i Tabell 27, testet ved tilstedeværelse og fravær av BKV-DNA.

Alle potensielt interfererende substanser, med unntak av talkumpudder har vist seg ikke å interferere med testens ytelse. Talkumpudder ved $\leq 0,05$ % viste ingen interferens med **cobas®** BKV. Det ble oppnådd negative resultater med **cobas®** BKV for alle prøver uten mål-BKV, og det ble oppnådd positive resultater for alle prøver med mål-BKV. I tillegg var gjennomsnittlig \log_{10} titer for hver av de positive BKV-prøvene som inneholdt potensielt interfererende substanser, innenfor $\pm 0,5 \log_{10}$ av gjennomsnittlig \log_{10} titer for den respektive spiked positive kontrollen.

Tabell 27 Legemiddelkomponenter som ble testet for interferens med kvantitering av BKV-DNA med **cobas®** BKV

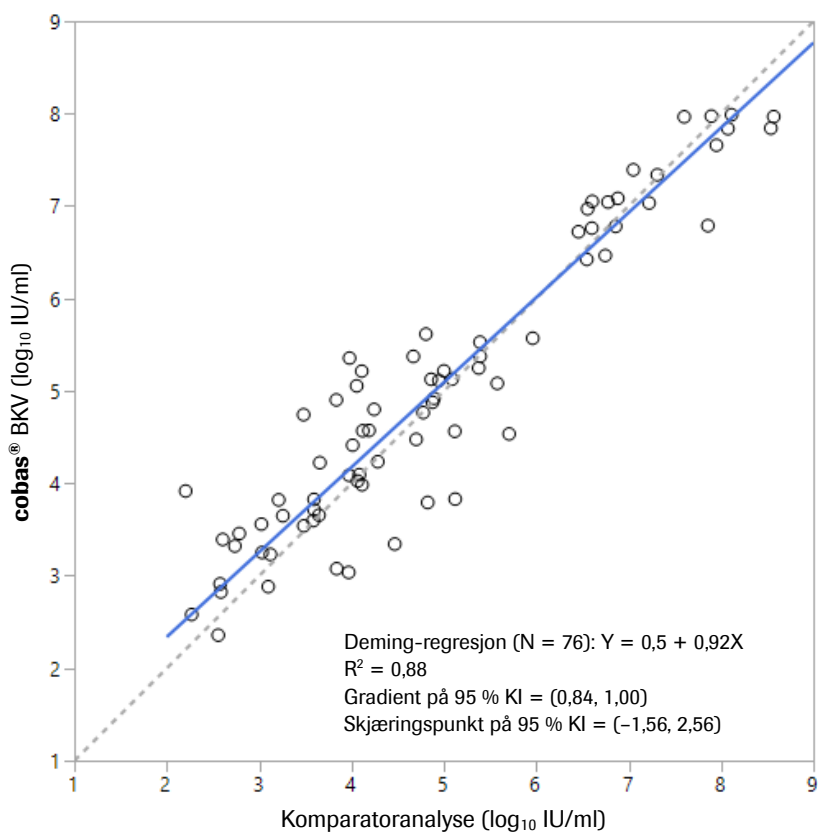
Legemiddelklasse	Aktivt stoff	Konsentrasjon	Generisk legemiddelnavn
Antimikrobielle midler	Klotrimazol	100 µg/ml	Gyne-Lotrimin 7
	Metronidazol	701 µmol/l	Arilin Rapid vaginale stikkpiller Vagi Metro Cream Nidazea Gel
Østrogensteroidhormon	Østradiol	4,41 nmol/l	Estrace
Analgetika	Fenazopyridinhydroklorid	200 µg/ml	Azo Standard
	Paracetamol	1324 µmol/l	Paracetamol
Smøremiddel	Propylenglykol	1000 µg/ml	K-Y UltraGel
Ikke-steroid antiinflammatorisk legemiddel	Acetylsalisylsyre	3,62 mmol/l	Acetylsalisylsyre
	Naproxen	2170 µmol/l	Naproxen
	Ibuprofen	2425 µmol/l	Ibuprofen
Ikke relevant	Talkum	0,05 % (vekt/volum)	Talkumpulver

Metodekorrelasjon

Ytelsen til cobas® BKV ble vurdert mot en komparatoranalyse ved å analysere urinprøver fra BKV-smittede pasienter. Urinprøver innenfor kvantiteringsområdet for begge testene ble testet som enkle replikater. Deming-regresjonsanalyse ble utført.

Resultatene av Deming-regresjonsanalysen vises i Figur 8.

Figur 8 Regresjonsanalyse av cobas® BKV sammenlignet med komparatoranalyse



Krysskontaminering

Krysskontamineringsfrekvensen for cobas® BKV ble bestemt ved å teste 240 replikater av en BKV-negativ matriksprøve og 225 replikater av en høytitret BKV-DNA-prøve på ca. $1,00E+09$ IU/ml. Det ble til sammen utført fem analyseserier med positive og negative prøver i en sjakkbrettkonfigurasjon.

Alle de 240 replikatene av den negative prøven var negative, noe som ga en krysskontamineringsfrekvens på 0,0 % (ensidig øvre 95 % konfidensintervall 1,24 %).

Evaluering av klinisk ytelse

Reproduserbarhet for cobas® BKV for prøvetypen EDTA-plasma

Reproduserbarheten for cobas® BKV ble evaluert på tvers av faktorer (reagenslot, teststed, serie og testdager) som kan påvirke rapporterte resultater i rutinemessig klinisk testing. Evalueringen ble utført på 3 teststeder, ved bruk av 3 reagensloter, med et panel med positive og negative prøver, med et totalt antall på 270 tester per konsentrasjon (ikke inkludert kontroller). Panelene ble laget av EDTA-plasma som var BKV VCA-IgG-negativt og ble testet for BKV med en plasma NAT-ekstraksjonsprotokoll, og tilsatt en internasjonal BKV-standard fra WHO, dyrket virus-DNA av BKV-genotype Ib (vanligste genotype). To operatører ved hvert sted testet hver reagenslot over 5 dager. To analyseserier (1 analyseserie = 1 serie; 1 serie = 1 panel + 3 kontroller) ble utført hver dag, og 3 replikater av hver panelprøve ble utført for hver analyseserie. Evalueringresultatene vises i Tabell 28.

Tabell 28 Prosentvis bidrag til total varians (%TV), totalt standardavvik for presisjon og lognormal CV for BKV-DNA-konsentrasjon (\log_{10} IU/ml) for positiv panelprøve

Forventet BKV-DNA-konsentrasjon (\log_{10} IU/ml)	Observert gjennomsnitt ^a BKV-DNA-konsentrasjon (\log_{10} IU/ml)	Antall tester ^b	Lot %TV ^c (CV%) ^d	Sted %TV ^c (CV%) ^d	Dag/operatør %TV ^c (CV%) ^d	Analyse-serie %TV ^c (CV%) ^d	Innenfor analyse-serie %TV ^c (CV%) ^d	Total presisjon SD ^e	Total presisjon lognormal 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 Beregnet ved bruk av fremgangsmåten SAS MIXED.

^b Antall gyldige tester med påvisbart DNA-nivå.

^c %TV = prosentvis bidrag til total varians.

^d CV% = lognormal prosentvis variasjonskoeffisient = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e Beregnet ved å bruke total variabilitet fra SAS MIXED-prosedyren.

Merke: Tabellen inkluderer bare resultater med påvisbart DNA-nivå. SD = standardavvik; CV = variasjonskoeffisient; BKV = BK-virus.

cobas® BKV viste akseptabel klinisk reproduserbarhet ved konsentrasjoner i hele det lineære området. I tillegg påviste systemet 100 % av 3 × LLoQ-prøvene. cobas® 6800- og cobas® 8800-systemer deler en modulær design, og de viste ekvivalens ved bruk av cobas® BKV. Alle de estimerte 95 % konfidensgrensene (CL) for differansen mellom 2 målinger fra samme person var innenfor $\pm 0,84 \log_{10}$ IU/ml, noe som indikerer at analysen kan vurdere endringer i BKV-DNA-nivåer som antas å være klinisk signifikante.

Alle de 270 gyldige testene for de negative panelprøvene utført på cobas® 6800/8800-systemene viste resultatet "Target Not Detected", derfor var negativt prosentvis samsvar (NPA) 100 % med 95 % eksakt KI på 98,6 % til 100 %.

Ytelse for cobas® BKV for prøvetypen EDTA-plasma

Den kliniske ytelsen til cobas® BKV ble videre evaluert på tre teststeder ved å måle BKV-DNA-nivåer i kliniske prøver (rene og fortynnede) av BKV-infiserte og ikke-infiserte pasienter og konstruerte EDTA-plasmaprøver tilsatt dyrket BKV-virus, sammenlignet med en veletablert laboratorieutviklet nukleinsyretest (LDT) (komparator BKV LDT). Fra alle prøver testet med cobas® BKV og komparator BKV-testen var det totalt 550 prøver (217 rene og 303 fortynnede kliniske prøver fra 129 transplantasjonspasienter og 30 konstruerte prøver) som var gyldige i begge analysene og evaluerbare for den kliniske samsvarsanalysen (Tabell 29).

Tabell 29 Samsvarsanalyse mellom cobas® BKV og komparator LDT for BKV-DNA-nivåresultater for alle prøver

cobas® BKV (log ₁₀ IU/ml)	Komparator BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) Target Not Detected	Komparator BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) < LLoQ (< 2,3)	Komparator BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) 2,3 til < 3,0	Komparator BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) 3,0 til < 3,7	Komparator BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) 3,7 til 4,4	Komparator BKV LDT (log ₁₀ IU/ml) > 4,4	Totalt
Target Not Detected	107	7	5	0	0	0	119
< LLoQ (< 2,3)	23	51	39	0	0	0	113
2,3 til < 3,0	0	3	40	62	1	0	106
3,0 til < 3,7	0	0	1	71	42	0	114
3,7 til 4,4	0	0	0	0	26	26	52
> 4,4	0	0	0	0	1	45	46
Totalt	130	61	85	133	70	71	550
Kolonnesamsvar (%)	(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 % score KI) ^a	(97,1 %, 100 %)	(94,1 %, 100,0 %)	(87,0 %, 97,5 %)	(97,2 %, 100,0 %)	(92,3 %, 99,7 %)	(94,9 %, 100,0 %)	-

Merk: KI = konfidensintervall; LLoQ = nedre kvantiteringsgrense for komparator BKV LDT (200 IU/ml = 2,3 log₁₀ IU/ml). Standardavvik for komparator BKV LDT estimert til 0,37 log₁₀ IU/ml (BKV LDT analytisk presisjonsstudie fra universitetet i Indiana). Analyttkonsentrasjon på 3,0 log₁₀ IU/ml representerte LLoQ + 2σ, 3,7 log₁₀ IU/ml representerte LLoQ + 4σ, og 4,4 log₁₀ IU/ml representerte LLoQ + 6σ med et områdeintervall på 2σ. Parede prøver som kunne vurderes for analyse av klinisk samsvar, ble inkludert i denne tabellen.

^a Antatt uavhengighet mellom alle prøvene.

Uoverensstemmende resultater ble definert som resultater som er mer enn én boks unna diagonalen (indikert med skyggelegging). For Target Not Detected (TND) ved LDT-kolonnesamsvar ble cellene for cobas® BKV Target Not Detected og < LLoQ (< 2,3) kombinert. Begrunnelsen for å summere de tilstøtende < LLoQ- og TND-cellene for TND-kolonnen er at differansen mellom en TND og < LLoQ ikke er klinisk betydningsfull, og at disse er analytisk i den nedre enden av måleområdet, som kan påvirkes av tilfeldig feil.

Av de 43 BKV-DNA-negative prøvene samlet inn for estimering av NPA med cobas® BKV var alle 43 prøver negative ved cobas® BKV, derfor var NPA 100 % med 95 % eksakt KI på 91,8 % til 100 %.

Samsvar mellom cobas® BKV og komparator BKV LDT ble også evaluert ved bruk av forskjellige kliniske terskler (Tabell 30).

Tabell 30 Sammendrag av samsvar for **cobas®** BKV og komparator BKV LDT ved bruk av forskjellige terskler for alle prøver

Terskler*	Prosentvis samsvar < terskel	Prosentvis samsvar ≥ terskel
	95 % KI (n/N)	95 % KI (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 %)

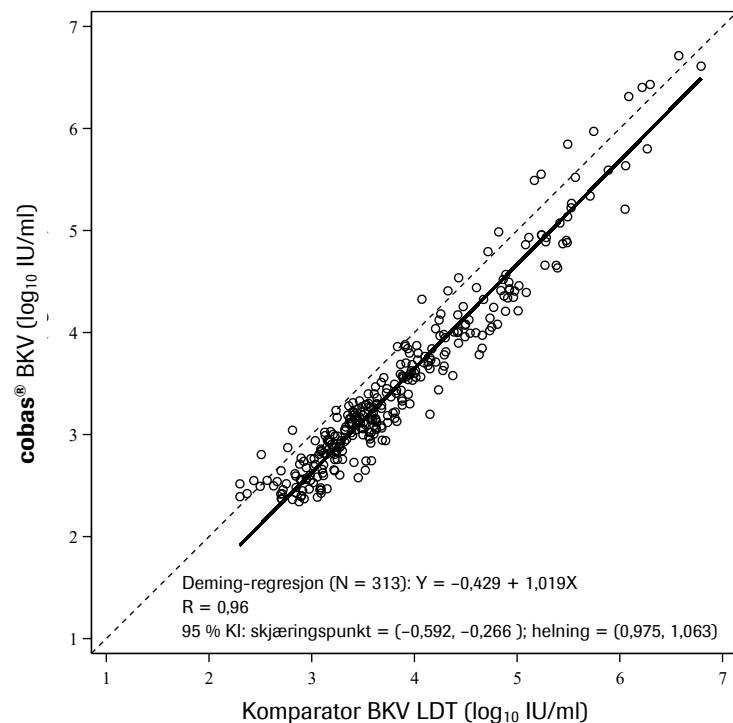
Merk: Prøver med resultatet "Target Not Detected" ble kategorisert som "< terskelverdi i IU/ml".

LLoQ = nedre kvantiteringsgrense for komparator BKV LDT (200 IU/ml = 2,3 log₁₀ IU/ml).

95 % konfidensintervall (KI) beregnet etter score-metode forutsatt uavhengighet mellom alle prøver.

* Terskler på 1000 IU/ml = 3,0 log₁₀ IU/ml og 10 000 IU/ml = 4,0 log₁₀ IU/ml.

Fra alle prøver testet med **cobas®** BKV som var BKV-positive med komparator BKV-testen, var det totalt 313 prøver (133 rene og 159 fortyndede kliniske prøver fra 68 transplantasjonspasienter og 21 konstruerte prøver) som var evaluerbare for korrelasjonsanalysen ved de tre teststedene (Figur 9).

Figur 9 Korrelasjon mellom **cobas®** BKV og komparator BKV LDT for alle prøver: Deming lineær regresjonsplott for DNA-nivåer (log₁₀ IU/ml)

Ytterligere analyse av skjevhetsplott for ulikheter i DNA-nivå indikerte en systematisk forskjell som er konstant på tvers av det overlappende lineære området mellom begge analysene. 95 % KI for skjæringspunktet for den tilpassede linjen i skjevhetsplott var (-0,404 til -0,168), som er innenfor $\pm 0,74 \log_{10}$ IU/ml (± 2 ganger standardavvik for analytisk presisjon for komparator BKV LDT). Videre ble gjennomsnittlig skjevhet estimert til $-0,357 \log_{10}$ IU/ml, og ved bruk av ligningen for den tilpassede linjen i skjevhetsplott var systematisk differanse mellom begge analysene henholdsvis $-0,343 \log_{10}$ IU/ml og $-0,362 \log_{10}$ IU/ml for prøver med DNA-nivåer på 3 og 4 \log_{10} IU/ml.

Reproduserbarhet for cobas® BKV for prøvetypen stabilisert urin

Reproduserbarheten for cobas® BKV ble evaluert på tvers av faktorer (reagenslot, teststed, serie og testdager) som kan påvirke rapporterte resultater i rutinemessig klinisk testing. Evalueringen ble utført på 3 teststeder, ved bruk av 3 reagensloter, med et panel med positive og negative prøver, med et totalt antall på 270 tester per konsentrasjon (ikke inkludert kontroller). Panelene ble laget av urin stabilisert med cobas® PCR Media som ble bekreftet negativt for BKV-DNA ved bruk av en ekstraksjonsprotokoll for urinnukleinsyretest (NAT) og tilsatt en internasjonal BKV-standard fra WHO, eller dyrket virus-DNA av BKV-genotype Ia. To operatører ved hvert sted testet hver reagenslot over 5 dager. To analyseserier (1 analyseserie = 1 serie; 1 serie = 1 panel + 3 kontroller) ble utført hver dag, og 3 replikater av hver panelprøve ble utført for hver analyseserie. Evalueringresultatene vises i Tabell 31.

Tabell 31 Prosentvis bidrag til total varians (%TV), totalt standardavvik for presisjon og lognormal CV for BKV-DNA-konsentrasjon (\log_{10} IU/ml) for positiv panelprøve (stabilisert urin)

Forventet BKV-DNA-konsentrasjon	Observert gjennomsnitt ^a BKV-DNA-konsentrasjon	Antall tester ^b	Lot %TV ^c (CV%) ^d	Sted %TV ^c (CV%) ^d	Dag/operatør %TV ^c (CV%) ^d	Analyse-serie %TV ^c (CV%) ^d	Innenfor analyse-serie %TV ^c (CV%) ^d	Total presisjon SD ^e	Total presisjon 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

Merk: Tabellen inkluderer bare resultater med påvisbart DNA-nivå. SD = standardavvik; CV = variasjonskoeffisient i prosent; BKV = BK-virus.

^a Beregnet ved bruk av fremgangsmåten SAS MIXED.

^b Antall gyldige tester med påvisbart DNA-nivå.

^c %TV = prosentvis bidrag til total varians.

^d CV% = lognormal prosentvis variasjonskoeffisient = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e Beregnet ved å bruke total variabilitet fra SAS MIXED-prosedyren.

cobas® BKV viste akseptabel klinisk reproduserbarhet ved konsentrasjoner i hele det lineære området. I tillegg påviste systemet 100 % av 3 × LLoQ-prøvene. cobas® 6800- og cobas® 8800-systemer deler en modulær design, og de viste ekvivalens ved bruk av cobas® BKV. Alle de estimerte 95 % konfidensgrensene (CL) for differansen mellom 2 målinger

fra samme person var innenfor $\pm 0,20 \log_{10}$ IU/ml, noe som indikerer at analysen kan vurdere endringer i BKV-DNA-nivåer som antas å være klinisk signifikante. Systemet viste 99,26 % negativt prosentvis samsvar med CI på 97,3–99,9 %. Av de 270 gyldige testene for de negative panelmedlemmene viste 2 prøver (0,74 %) et DNA-nivå på < LLoQ-positivitet. Videre undersøkelse av disse resultatene viste at de ikke var assosiert med et bestemt instrument/sted eller en bestemt reagenslot. Ytterligere DNA-sekvensering bekreftet tilstedeværelsen av BKV. De identifiserte BKV-sekvensene var forskjellige fra den positive kontrollen og BKV-stammen som ble brukt til panelklargjøring, noe som utelukket kontaminering under panelklargjøring og tydet på spor av virus i en av de 25 urinprøvene i den samlede urinprøven som ble brukt til det negative panelpreparatet.

Ytelse for cobas® BKV for prøvetypen stabilisert urin

Den kliniske ytelsen til cobas® BKV ble videre evaluert på tre teststeder ved å måle BKV-DNA-nivåer i kliniske urinprøver fra BKV-infiserte og ikke-infiserte pasienter som ble stabilisert i cobas® PCR Media, sammenlignet med en veletablert LDT (komparator BKV LDT).

Fra alle prøver testet med cobas® BKV og komparator BKV-testen var det totalt 308 rene urinprøver stabilisert i cobas® PCR Media fra 84 transplantasjonspasienter som var gyldige i begge analysene og evaluerbare for den kliniske samsvarsanalysen (Tabell 32).

Tabell 32 Samsvarsanalyse mellom cobas® BKV og komparator LDT for BKV-DNA-nivåresultater (\log_{10} IU/ml) for alle prøver (stabilisert urin)

cobas® BKV (\log_{10} IU/ml)	Komparator BKV LDT Target Not Detected	Komparator BKV LDT < LLoQ (< 3,0)	Komparator BKV LDT 3,0 til < 3,3	Komparator BKV LDT 3,3 til < 3,6	Komparator BKV LDT 3,6 til 3,9	Komparator BKV LDT > 3,9	Totalt
Target Not Detected	62	6	0	0	0	0	68
< LLoQ (< 3,0)	4	22	0	0	0	1	27
3,0 til < 3,3	0	2	0	0	0	0	2
3,3 til < 3,6	0	0	6	3	0	0	9
3,6 til 3,9	0	0	2	11	10	0	23
> 3,9	0	0	0	2	8	169	179
Totalt	66	30	8	16	18	170	308
Kolonnesamsvar (%)	(66/66) 100,0 %	(30/30) 100,0 %	(6/8) 75,0 %	(14/16) 87,5 %	(18/18) 100,0 %	(169/170) 99,4 %	-
(95 % score KI) ^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 %)	-

Merk: KI = konfidensintervall; LLoQ = nedre kvantiteringsgrense for komparator BKV LDT (1000 IU/ml = $3,0 \log_{10}$ IU/ml);

LDT = laboratorieutviklet test; BKV = BK-virus.

Standardavvik for komparator BKV LDT estimert til $0,15 \log_{10}$ IU/ml (komparator BKV LDT-valideringsstudie).

Analyttkonsentrasjon på $3,3 \log_{10}$ IU/ml representerte LLoQ + 2σ , $3,6 \log_{10}$ IU/ml representerte LLoQ + 4σ , og $3,9 \log_{10}$ IU/ml representerte LLoQ + 6σ med et områdeintervall på 2σ .

Parede prøver som kunne vurderes for analyse av klinisk samsvar, ble inkludert i denne tabellen.

^a Antatt uavhengighet mellom alle prøvene.

DNA-sekvensering på representative prøver fra personer med resultater konsekvent forskjøvet med mer enn 1 log₁₀ IU/ml DNA-nivå fant ingen sekvensfeil for noen primer- eller probemål for **cobas**® BKV. Uoverensstemmende resultater ble definert som resultater som er mer enn én boks unna diagonalen (indikert med skyggelegging). For Target Not Detected (TND) ved LDT-kolonesamsvar ble cellene for **cobas**® BKV Target Not Detected og < LLoQ (< 3,0) kombinert. Begrunnelsen for å summere de tilstøtende < LLoQ- og TND-cellene for TND-kolonnen er at differansen mellom en TND og < LLoQ ikke er klinisk betydningsfull, og at disse er analytisk i den nedre enden av måleområdet, som kan påvirkes av tilfeldig feil. Av de 66 BKV-DNA-negative prøvene samlet inn for estimering av NPA med **cobas**® BKV viste 61 gyldige resultater. Alle disse 61 prøvene var negative ved **cobas**® BKV, derfor var NPA 100 % med 95 % eksakt KI på 94,1 % til 100 %.

Samsvar mellom **cobas**® BKV og komparator BKV LDT ble også evaluert ved bruk av forskjellige kliniske terskler (Tabell 33).

Tabell 33 Sammendrag av samsvar for **cobas**® BKV og komparator BKV LDT ved bruk av forskjellige terskler for alle prøver (stabilisert urin)

Terskel*	Prosentvis samsvar < terskel 95 % KI (n/N)	Prosentvis samsvar ≥ terskel 95 % KI (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 %)

Merk: Prøver med resultatet "Target Not Detected" (Målgen ikke detektert) ble kategorisert som "< terskelverdi i IU/ml".

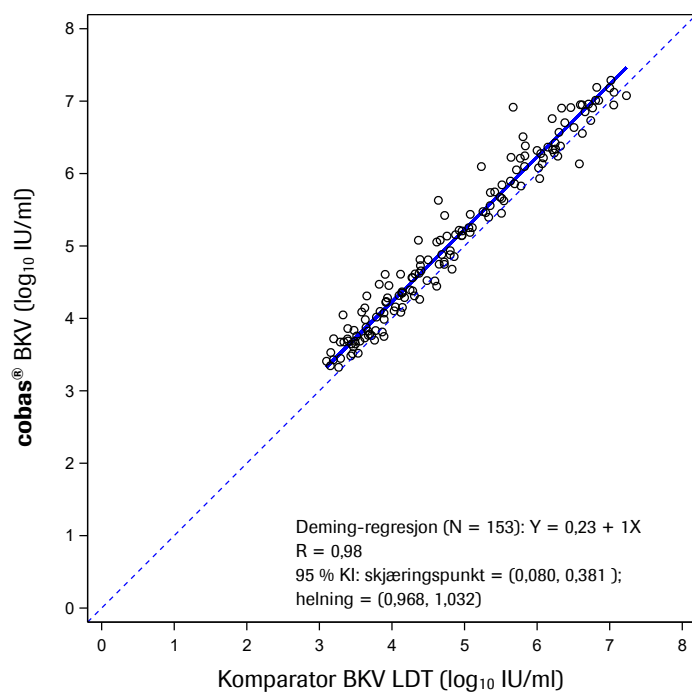
LLoQ = nedre kvantiteringsgrense for komparator BKV LDT (1000 IU/ml = 3,0 log₁₀ IU/ml).

95 % konfidensintervall (KI) beregnet etter score-metode forutsatt uavhengighet mellom alle prøver.

* Terskler på 10 000 IU/ml = 4,0 log₁₀ IU/ml og 10 000 000 IU/ml = 7,0 log₁₀ IU/ml.

Fra alle prøver testet med **cobas**® BKV som var BKV-positive med komparator BKV-testen, var det totalt 153 rene urinprøver stabilisert i **cobas**® PCR Media fra 55 transplantasjonspasienter som var evaluerbare for korrelasjonsanalysen ved de tre teststedene (Figur 10).

Figur 10 Korrelasjon mellom **cobas®** BKV og komparator BKV LDT for alle prøver: Deming lineær regresjonsplott for DNA-nivåer (\log_{10} IU/ml) (stabilisert urin)



Ytterligere analyse av skjevhetsplott for ulikheter i DNA-nivå indikerte en systematisk forskjell som er konstant på tvers av det overlappende lineære området mellom begge analysene. 95 % KI for skjæringspunktet for den tilpassede linjen i skjevhetsplott var (0,168 til 0,488), som er innenfor $\pm 0,5 \log_{10}$ IU/ml. Videre ble gjennomsnittlig skjevhet estimert til 0,231 \log_{10} IU/ml, og ved bruk av ligningen for den tilpassede linjen i skjevhetsplott var systematisk differanse mellom begge analysene henholdsvis 0,248 \log_{10} IU/ml og 0,188 \log_{10} IU/ml for prøver med DNA-nivåer på 4 \log_{10} IU/ml og 7 \log_{10} IU/ml.

Tilleggsinformasjon

Viktige analysefunksjoner





















































Prøvetype	EDTA-plasma	Urin stabilisert i cobas ® PCR Media
Minimum prøvemengde som kreves	350 µl*	550 µl*
Prøveprosesseringsvolum	200 µl	400 µl
Analytisk sensitivitet	21,5 IU/ml (tosidig 95 % konfidensintervall: 16,3–32,4 IU/ml)	12,2 IU/ml (tosidig 95 % konfidensintervall: 9,2–18,3 IU/ml)
Lineært område	21,5 IU/ml til 1E+08 IU/ml	200 IU/ml til 1E+08 IU/ml
Spesifisitet	100 %	100 %
Detekterte subtyper	BKV-subtyper I (med undergrupper Ia, Ib og Ic), II, III og IV	

* Dødvolum på 150 µl er identifisert for **cobas**® **omni**-sekundærrør. Andre rør som brukes til testing kan ha et annet dødvolum og kreve mer eller mindre minste volum. Kontakt den lokale Roche-servicerepresentanten for å få mer informasjon.

Symboler

Følgende symboler brukes ved merking for Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tabell 34 Symboler brukt ved merking av Roche PCR-diagnostiske produkter

 Alder eller fødselsdato	 Utstyr ikke for pasientnær testing	 QS IU per PCR-reaksjon, bruk QS internasjonale enheter (IU) per PCR-reaksjon ved beregning av resultatene.
 Tilleggsprogramvare	 Utstyr ikke for selvtesting	 Serienummer
 Angitt område (kopier/ml)	 Distributør <i>(Merk: Gjeldende land/region kan være angitt under symbolet.)</i>	 Sted
 Angitt område (IU/ml)	 Skal ikke brukes om igjen	 Standardprosedyre
 Autorisert representant i EU	 Kvinne	 Sterilisert med etylenoksid
 Strekkodedataark	 Kun for evaluering av IVD-ytelse	 Oppbevares på et mørkt sted
 Partikode	 Globalt handelsnummer	 Temperaturbegrensning
 Biologisk risiko	 Importør	 Testdefinisjonsfil
 Katalognummer	 <i>In vitro</i> -diagnostisk medisinsk utstyr	 Denne siden opp
 CE-samsvarsmerking; dette utstyret er i samsvar med gjeldende krav til CE-merking av <i>in vitro</i> -diagnostisk medisinsk utstyr	 Nedre grense for akseptområdet	 UltraSensitive-prosedyre
 Prøvetakingsdato	 Mann	 Unik utstyrs-ID
 Vennligst se brukerhjelpen	 Produsent	 Øvre grense for akseptområdet
 Inneholder tilstrekkelig til <n> tester	 Negativ kontroll	 Fyllestrek for urin
 Innhold i kitet	 Ikke-steril	 For USA: Advarsel: Føderal lov begrenser salg eller bestilling av dette utstyret til leger.
 Kontroll	 Pasientnavn	 Utløpsdato
 Produksjonsdato	 Pasientnummer	
 Utstyr for pasientnær testing	 Riv av her	
 Utstyr for selvtesting	 Positiv kontroll	
	 QS-kopier per PCR-reaksjon, bruk QS-kopier per PCR-reaksjon ved beregning av resultater.	

Teknisk støtte

For teknisk brukerstøtte (hjelp), kontakt din lokale Roche-representant:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Produsent og importør

Tabell 35 Produsent og importør



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

Laget i USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Varemerker og patenter

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

Opphavsrett

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referanser

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

Dokumentrevisjon

Informasjon om dokumentrevisjon	
Doc Rev. 4.0 12/2024	<p>Lagt til informasjon om systemets programvareversjon 2.0 for cobas® 6800/8800-systemene.</p> <p>Lagt til NIBSC-kode: 14/212 for WHO International Standard.</p> <p>Oppdatert visning av resultateksempler på cobas® 6800/8800-systemene med programvareversjon 1.4.</p> <p>Fjernet delenumre på forbruksvarer, detaljert informasjon om forbruksvarer finnes i brukerstøtten til cobas® 5800- og cobas® 6800/8800-systemene.</p> <p>Fjernet "Rx Only" fra forsiden.</p> <p>Oppdaterte den harmoniserte symbolsiden.</p> <p>Kontakt den lokale representanten fra Roche hvis du har noen spørsmål.</p>

Sammendraget av sikkerhets- og ytelsesrapporten finner du på følgende lenke: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.