

REF

201501 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip 2.0**R only**

LET OP: Voor VS: uitsluitend bestemd voor export

IVD

Voor *in-vitro* diagnostisch gebruik met het NeuMoDx 288 System en NeuMoDx 96 Molecular SystemsGa voor updates van bijsluiters naar: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 288 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600108

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 96 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600317

BEOOGD GEBRUIK

De NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 is een geautomatiseerde *in-vitro* nucleïdezuuramplificatietest voor de kwantificering van menselijk Epstein-Barrvirus-DNA (EBV-DNA) in EDTA-plasma van transplantaatpatiënten met immunosuppressies.

De NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, zoals uitgevoerd in het NeuMoDx 288 Molecular System en het NeuMoDx 96 Molecular System maakt gebruik van geautomatiseerde DNA-extractie om het doelnucleïnezuur van het specimen te isoleren en van een realtime Polymerase Chain Reaction, PCR om zich te richten op de sterk geconserveerde gebieden in het EBV-genoom.

De assay is bedoeld als hulpmiddel bij het monitoren van EBV-DNA-niveaus in perifere bloed om de virale respons op behandeling te beoordelen. Deze assay moet in combinatie met het klinische beeld en andere laboratoriummarkers van het ziekteverloop worden gebruikt om een EBV-infectie klinisch te behandelen en monitoren.

De assay is niet bedoeld voor gebruik als screeningtest die erop gericht is de aanwezigheid van EBV-DNA in bloed of bloedproducten op te sporen. De NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 is bedoeld voor gebruik door getraind klinisch laboratoriumpersoneel dat specifiek geïnstrueerd en getraind is in de technieken van realtime PCR en *in-vitro* diagnostische procedures en/of NeuMoDx Molecular Systems. De NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 is niet bedoeld voor zelftests of voor gebruik op de plaats van zorgverlening.

SAMENVATTING EN UITLEG

Voor de bereiding van plasma kan menselijk volbloed worden gebruikt, dat verzameld is in steriele bloedafnamebuisjes met EDTA als antistollingsmiddel. Het plasmaspecimen wordt overgebracht naar een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System, in een specimenbuisjesdrager gezet en vervolgens op de werktafel van het NeuMoDx System geplaatst. Van elk plasmamonster wordt een aliquot deel van 550 µl gemengd met NeuMoDx Lysis Buffer 1. Het NeuMoDx System voert vervolgens automatisch alle stappen uit die nodig zijn voor de extractie van het beoogde nucleïnezuur, het voorbereiden van het geïsoleerde DNA voor realtime PCR-amplificatie en, indien aanwezig, het amplificeren en detecteren van de amplificatieproducten (twee sterk geconserveerde gebieden in het EBV-genoom). De NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 omvat een DNA-monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC1) als hulpmiddel voor het opsporen van mogelijke remmers en fouten van het NeuMoDx System of van reagentia die tijdens het extractie- en het amplificatieproces kunnen optreden. EBV is een veelvoorkomend virus van dubbelstrengs DNA van de menselijke herpesfamilie en mensen van alle leeftijden kunnen geïnfecteerd raken. Naar schatting is meer dan 90% van de wereldbevolking geïnfecteerd of geïnfecteerd geweest met EBV.¹ EBV wordt verspreid via lichaamsvloeistoffen, zoals speeksel, bloed en sperma en via orgaantransplantatie. Veel mensen worden als kind geïnfecteerd met EBV. Bij deze groep verloopt de EBV-infectie meestal asymptomatisch. Bij mensen met een immuniteitsstoornis treden soms ernstigere symptomen en complicaties op door EBV-infectie. Latente EBV-infecties vormen het grootste risico voor patiënten die een transplantatie hebben ondergaan. Een van de lymfoproliferatieve aandoeningen (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders, PTLD's) die optreden na een transplantatie is door EBV aangestuurde tumorvorming in B-cellen. Dit wordt veroorzaakt door het effect van immunosuppressieve middelen op de immuniteitscontrole van EBV en is een van de belangrijkste oorzaken van morbiditeit en mortaliteit bij patiënten die een transplantatie ondergaan.² Dankzij het monitoren van de EBV-viruslast kunnen EBV-gerelateerde PTLD's worden gediagnosticeerd en behandeld. Diagnose dient echter wel te worden uitgevoerd aan de hand van een biopsie. Monitoren van de EBV-viruslast kan tevens worden gebruikt om de reactie op EBV-gerelateerde PTLD-behandeling te monitoren. Behandeling gebeurt normaliter met Rituximab en een vermindering in immunosuppressieve therapy.³

UITGANGSPUNT VAN DE PROCEDURE

Voor het uitvoeren van de analyse maakt de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 op het NeuMoDx System gebruik van de NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 en reagentia van NeuMoDx voor algemeen gebruik. De NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 combineert geautomatiseerde extractie, amplificatie en detectie van DNA door realtime PCR. Voor de bereiding van plasma worden volbloedspecimens verzameld in EDTA-buisjes. Het plasmaspecimen in een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System wordt overgebracht naar een specimenbuisjesdrager en vervolgens op de werktafel van het NeuMoDx System wordt geplaatst voor verwerking. De bediener hoeft verder niets meer te doen.

De NeuMoDx Systems gebruiken een combinatie van hitte, lytisch enzym en extractiereagentia om automatisch cellysis en DNA-extractie uit te voeren en remmers te verwijderen. De vrijgekomen nucleïnezuren worden opgenomen door magnetische microbolletjes. De microbolletjes met de gebonden nucleïnezuren worden in de NeuMoDx Cartridge geplaatst, waar vervolgens de ongebonden bestanddelen die geen DNA zijn, worden gewegwassen met het NeuMoDx Wash Reagent en het gebonden DNA wordt geëluëerd met het NeuMoDx Release Reagent. De NeuMoDx Systems doordrenken daarna de bedrijfseigen NeuDry™-amplificatiereagentia met het geëluëerde DNA. Deze reagentia bevatten alle elementen die nodig zijn voor de PCR-amplificatie van het EBV-specifieke doelmateriaal en SPC1. Na reconstitutie van de NeuDry PCR-reagentia brengt het NeuMoDx System het bereide PCR-mengsel over naar de NeuMoDx Cartridge. De amplificatie en detectie van de controle- en doel-DNA-sequenties (indien aanwezig) vinden plaats in de PCR-kamer van de NeuMoDx Cartridge. De NeuMoDx Cartridge is ook zodanig ontworpen dat hij na realtime PCR het amplificaat vasthoudt en zo het risico op besmetting na amplificatie vrijwel elimineert.

De NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 richt zich op twee sterk geconserveerde gebieden, BALF5 en BXFL1, in het EBV-genoom. Door twee doelgebieden te testen, wordt het risico op fout-negatieve resultaten in het geval van mutaties in één doelgebied verminderd en wordt de assay betrouwbaarder. De geamplificeerde doelen worden realtime gedetecteerd met behulp van hydrolyseprobeverbindingen (meestal aangeduid met TaqMan®-verbindingen) die gebruikmaken van fluorogene, amplificatiespecifieke oligonucleotideprobemoleculen voor hun respectievelijke doelen.

TaqMan-probes bestaan uit een fluorofoor die covalent is bevestigd aan het 5'-uiteinde van de oligonucleotideprobe en een quencher die is bevestigd aan het 3'-uiteinde. De fluorofoor en de quencher bevinden zich vlak bij elkaar op de intacte probe, waardoor het quenchermolecuul het fluorescent dat wordt uitgestraald door de fluorofoor dooft door middel van Förster-resonantie-energieoverdracht (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-probes zijn zo ontworpen dat ze hybridiseren binnen een DNA-gebied dat is geamplificeerd door een specifieke set primers. Terwijl de Taq-DNA-polymerase de primer verlengt en de nieuwe streng synthetiseert, degradeert de activiteit van de 5'- tot 3'-exonuclease van de Taq-DNA-polymerase de probe die aan de template is gehybridiseerd. Door de degradatie geeft de probe de fluorofoor vrij en wordt de nabijheid met de quencher verbroken, waardoor het dovende effect door middel van FRET wordt doorbroken en fluorescentiedetectie van de fluorofoor mogelijk wordt. Het resulterende fluorescentiesignaal dat wordt gedetecteerd is recht evenredig met de vrijgekomen fluorofoor en kan worden gecorreleerd met de hoeveelheid aanwezige doel-DNA.

Er wordt een TaqMan-probe gebruikt die gemerkt is met een fluorofoor (bekrachtiging: 490 nm en emissie: 521 nm) aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde voor het detecteren van beide EBV-DNA-doelen. Voor de detectie van SPC1 is de TaqMan-probe gemerkt met een andere fluorescerende kleurstof (bekrachtiging: 535 nm en emissie: 556 nm) aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde. De software van het NeuMoDx System meet het fluorescentiesignaal dat aan het einde van elke amplificatiecyclus wordt uitgezonden door de TaqMan-probes. Wanneer de amplificatie is voltooid, analyseert de software van het NeuMoDx System de gegevens en geeft het systeem de uitslag POSITIVE (Positief), NEGATIVE (Negatief), INDETERMINATE (Onbepaald), NO RESULT (Geen resultaat) of UNRESOLVED (Onbekend). Als een resultaat POSITIVE (Positief) is, geeft de software van het NeuMoDx System ook een kwantitatieve waarde die met het monster wordt geassocieerd en verschijnt er een melding als de berekende concentratie zich buiten het lineaire bereik.



REAGENTIA/VERBRUIKSARTIKELEN

Meegeleverde materialen

REF	Inhoud	Eenheden per pakket	Tests per eenheid	Tests per pakket
201501	NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 <i>Gedroogde RT-PCR-reagentia met EBV- en SPC1-specifieke TaqMan-probe en -primers.</i>	6	16	96

Materialen die benodigd zijn, maar niet worden meegeleverd (afzonderlijk verkrijgbaar via QIAGEN)

REF	Inhoud
800501	NeuMoDx EBV Calibrators <i>Sets met EBV hoge en lage kalibrators voor eenmalig gebruik om de validiteit van de standaardcurve vast te stellen (1 flacon van elke controle = 1 set)</i>
900502	NeuMoDx EBV External Controls <i>Sets met EBV-laag-positieve, hoog positieve en negatieve controles voor eenmalig gebruik om de dagelijkse validiteit van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 vast te stellen (1 flacon van elke controle = 1 set)</i>
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Gedroogde paramagnetische deeltjes, lytisch enzym en monsterverwerkingscontroles</i>
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE/CO-RE II-tips (300 µl) met filters
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II-tips (1000 µl) met filters

Benodigde instrumenten

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] of NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

NeuMoDx System-software versie 1.9.2.6 of hoger



WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- De NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 is uitsluitend geschikt voor *in-vitro* diagnostisch gebruik in combinatie met de NeuMoDx Systems.
- Gebruik de reagentia en de verbruiksartikelen niet na de vermelde houdbaarheidsdatum.
- Gebruik de reagentia niet als de verzegeling is verbroken of als de verpakking bij aankomst is beschadigd.
- Gebruik de verbruiksartikelen of reagentia niet als de beschermhoes bij levering is geopend of beschadigd.
- Er moet een geldige testkalibratie beschikbaar zijn (verkregen door het verwerken van hoge en lage NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800501]) voordat er testresultaten kunnen worden gegenereerd voor klinische monsters.
- De NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502] moeten om de 24 uur worden verwerkt tijdens het testen met de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
- Het minimale specimenvolume van secundaire aliquots van EDTA-plasma worden hieronder in paragraaf Testvoorbereiding genoemd. Een volume onder het opgegeven minimum kan leiden tot de fout 'Quantity Not Sufficient' (Te weinig volume).
- Het gebruik van specimens die bij ongeschikte temperaturen of langer dan de gespecificeerde opslagtijd zijn bewaard, kan leiden tot ongeldige of foutieve resultaten.
- Voorkom besmetting van reagentia en verbruiksartikelen met microben en ribonuclease (DNase). Bij het gebruik van secundaire buisjes wordt aanbevolen steriele, DNase-vrije wegwerppipetten te gebruiken. Gebruik voor elk specimen een nieuwe pipet.
- Hanteer of demonteer na het amplificatieproces geen NeuMoDx Cartridges om contaminatie te voorkomen. Haal onder geen enkele omstandigheid NeuMoDx Cartridges uit de container voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 288 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 96 Molecular System). De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om contaminatie te voorkomen.
- Let goed op dat de NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, de aanvullende benodigde verbruiksartikelen en reagentia voor de test, de persoonlijke beschermingsuitrusting zoals handschoenen en een laboratoriumjas, en het NeuMoDx System niet worden verontreinigd wanneer er in het laboratorium ook PCR-tests met open buisjes worden uitgevoerd.
- Draag schone, poedervrije handschoenen van nitril bij het hanteren van NeuMoDx-reagentia en -verbruiksartikelen. Let goed op dat u de bovenkant van de NeuMoDx Cartridge, de folielaag van de NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 en de NeuMoDx Extraction Plate of de bovenkant van de NeuMoDx Lysis Buffer-container niet aanraakt; pak de verbruiksartikelen en reagentia alleen bij de zijanten vast.
- Voor elk reagens zijn veiligheidsinformatiebladen (VIB's) beschikbaar (waar van toepassing) via www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Was uw handen grondig na het uitvoeren van de test.
- Pipetteer niet met de mond. Rook, drink of eet niet in ruimten waarin specimens of reagentia worden verwerkt.
- Behandel specimens altijd alsof ze infectieus zijn en volg procedures voor veilig werken in het laboratorium, zoals beschreven in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ en in CLSI-document M29-A4.⁵
- Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's).
- Voer ongebruikte reagentia en afval af in overeenstemming met nationale, federale, provinciale en lokale regelgeving. Volg de aanbevelingen in het veiligheidsinformatieblad (VIB).

NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Bevat: boorzuur. Gevaar! Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Kan de vruchtbaarheid of het ongeboren kind schaden. Alvorens te gebruiken de speciale aanwijzingen raadplegen. Pas gebruiken nadat u alle veiligheidsvoorschriften gelezen en begrepen heeft. Beschermende handschoenen/ beschermende kleding/ oogbescherming/ gelaatsbescherming dragen. NA (mogelijke) blootstelling: een arts raadplegen. Achter slot bewaren. Inhoud/ verpakking afvoeren naar een erkend afvalverwerkingsbedrijf.

Informatie bij noodgevallen

CHEMTRAC

Buiten de VS en Canada +1 703-527-3887



OPSLAG, HANTERING EN STABILITEIT VAN HET PRODUCT

1. De NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 blijven in de primaire verpakking tot en met de vermelde uiterste gebruiksdatum op het productetiket stabiel bij 15 tot 28 °C.
2. Wanneer de NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 geladen is, kan de strip maximaal 14 dagen op het NeuMoDx System blijven. De resterende levensduur van de teststrips wordt door de software gevolgd, en direct aan de gebruiker gemeld. Het systeem vraagt de gebruiker om teststrips die na de toegestane periode worden gebruikt te verwijderen.
3. Hoewel de NeuMoDx EBV Calibrators en NeuMoDx EBV External Controls niet besmettelijk zijn, moeten deze na gebruik worden weggegooid als biologisch gevaarlijk afval om het risico op contaminatie te beperken.

AFNAME, TRANSPORT EN OPSLAG VAN SPECIMENS

Hanteer alle specimens alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.

1. Vries geen volbloed of specimens in die in primaire buisjes worden bewaard.
2. Voor het bereiden van plasmaspecimens moet volbloed worden afgenomen in steriele buisjes met EDTA als antistollingsmiddel. Volg de instructies van de fabrikant van de buisjes voor specimenafname.
3. Volbloed dat is afgenomen met de bovengenoemde hulpmiddelen kan maximaal 24 uur worden bewaard en/of getransporteerd bij een temperatuur van 2 °C tot 25 °C voorafgaand aan het bereiden van het plasma. Het bereiden van plasma moet worden uitgevoerd conform de instructies van de fabrikant.
4. Bereide plasma specimens kunnen maximaal 8 uur in het NeuMoDx System worden bewaard voorafgaand aan de verwerking. Als bijkomende opslagtijd vereist is, wordt aanbevolen dat de specimens worden gekoeld of bevroren.
5. Bewaar bereide plasmaspecimens voorafgaand aan het testen maximaal 7 dagen bij 2 tot 8 °C en maximaal 8 uur bij kamertemperatuur.
6. Bereide plasmaspecimens kunnen maximaal 8 weken worden bewaard bij een temperatuur van -20 °C. Plasmamonsters mogen voorafgaand aan gebruik niet meer dan 2 keer worden bevroren en ontdooid.
 1. Als de specimens bevroren zijn, laat u ze bij kamertemperatuur (15 tot 30 °C) volledig ontdoien; vortex om een gelijkmatig verdeeld monster te verkrijgen. Monsters moeten op kamertemperatuur komen voordat deze worden getest.
 2. Zodra de bevroren monsters ontdooid zijn, dienen de tests binnen 8 uur te worden uitgevoerd.
7. Als specimens worden verzonden, moeten ze worden verpakt en gelabeld conform de toepasselijke landelijke en/of internationale regelgeving.

GEBRUIKSHANDLEIDING

Testvoorbereiding

1. Breng het barcodelabel voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System volgens de beschrijving hieronder.
2. Breng een aliquot van specimen over naar een specimenbuisje met barcode en dat compatibel is met het NeuMoDx System (zie hieronder voor het juiste volume):
3. *Voor plasmaspecimens:*
 - Specimenbuisdrager (32 buisjes): 11-14 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 750 µl
 - Specimenbuisdrager (24 buisjes): 14,5-18 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 1100 µl
 - Specimenbuisjesdrager met laag volume (32 buisjes): 1,5 ml microcentrifugebuisje met conische bodem; minimaal vulvolume ≥ 650 µl

Bediening van het NeuMoDx System

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular System (O/N 40600108 en 40600317) voor gedetailleerde instructies

1. Plaats NeuMoDx EBV Quant Test Strip(s) 2.0 in een of meer NeuMoDx System Test Strip Carrier(s) en plaats de teststripdrager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
2. Plaats de benodigde verbruiksartikelen in de betreffende dragers van het NeuMoDx System als de software van het NeuMoDx System dat aangeeft. Laad de dragers voor verbruiksartikelen vervolgens met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
3. Vervang het NeuMoDx Wash Reagent en het NeuMoDx Release Reagent en leeg het primerafval en de container voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 288 Molecular System), de bak voor tipafval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System) als u de instructie hiervoor krijgt op het scherm van het NeuMoDx System.
4. Verwerk de Calibrators [REF 800501] en/of External Controls [REF 900502] als u de instructie hiervoor krijgt via de software van het NeuMoDx System. Meer informatie over kalibrators en controles vindt u terug in de paragraaf *Resultaten verwerken*.
5. Laad de specimenbuisjes in een specimenbuisjesdrager en controleer of alle dopjes en wattenstaafjes van de buisjes zijn verwijderd.
6. Plaats de specimenbuisjesdrager(s) in het autoladerrek en laad de drager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System. Omdat er een geldige testopdracht in het systeem aanwezig is, wordt hierdoor de verwerking van de geladen specimens voor de aangegeven test(s) gestart.

BEPERKINGEN

1. De NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 kan alleen in NeuMoDx Systems worden gebruikt.
2. De prestaties van de NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 zijn vastgesteld voor plasmaspecimens die zijn bereid met volbloed dat is afgenomen met EDTA als antistollingsmiddel. Het gebruik van de NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 met andere klinische bronnen is niet beoordeeld en de prestatiekenmerken voor andere soorten specimens zijn onbekend.
3. Aangezien de detectie van EBV afhankelijk is van het aantal virale deeltjes dat in het monster aanwezig is, zijn betrouwbare resultaten afhankelijk van de manier waarop specimens worden afgenomen, behandeld en bewaard.
4. Foutieve resultaten kunnen worden veroorzaakt door onjuiste afname, hantering of opslag van specimens, door technische fouten of door het door elkaar halen van specimenbuisjes. Bovendien kunnen zich fout-negatieve resultaten voordoen wanneer het aantal virusdeeltjes in het monster lager is dan de detectielimiet van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
5. Het bedienen van het NeuMoDx System mag alleen worden uitgevoerd door medewerkers die zijn getraind in het gebruik van het NeuMoDx System.
6. Als zowel de EBV-doelen als het SPC1-doelmateriaal niet amplificeren, wordt er een ongeldig resultaat (Indeterminate (Onbepaald) of Unresolved (Onbekend)) gerapporteerd en moet de test worden herhaald.

7. Als er een systeemfout optreedt voor de monsterverwerking wordt voltooid, wordt 'No Result' (Geen resultaat) gemeld en moet de test worden herhaald.
8. Als het gedetecteerde EBV-DNA hoger dan de ULoQ was, kan de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 worden herhaald met een verdund aliquot deel van het oorspronkelijke specimen. Een verdunning van 1:100 of 1:1000 in EBV-negatief plasma of Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA) is aanbevolen. Zolang voorafgaand aan herhaling de juiste verdunningsfactor is geselecteerd in de software, berekent het systeem automatisch de concentratie van het oorspronkelijke specimen op de volgende manier: Oorspronkelijke concentratie specimen = $\text{Log}_{10}(\text{verdunningsfactor}) + \text{gerapporteerde concentratie van het verdunde monster}$, mits de verdunningsfactor vooraf herhaling juist in de software is geselecteerd.
9. De aanwezigheid van PCR-remmers in plasma kan resulteren in een kwantificeringsfout in het systeem. Als dat gebeurt, wordt aanbevolen om de test te herhalen met hetzelfde specimen, verdund in Basematrix in een verhouding van 1:10 of 1:100.
10. Positieve resultaten wijzen op de aanwezigheid van EBV-DNA.
11. Hoewel de kans klein is, kunnen verwijderingen of mutaties in de geconserveerde gebieden waarop de NeuMoDx EBV Quant Assay is gericht, de detectie en/of kwantificering beïnvloeden en kunnen leiden tot een foutief resultaat.
12. De resultaten van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 moeten door de arts worden beschouwd als aanvulling op klinische observaties en overige beschikbare informatie. De test is niet bedoeld voor het diagnosticeren van de infectie.
13. Gebruik de goede laboratoriumpraktijken, zoals het aantrekken van nieuwe handschoenen bij het hanteren van specimen van verschillende patiënten, om besmetting te voorkomen.

RESULTATEN VERWERKEN

Beschikbare resultaten kunnen worden bekeken of afgedrukt vanuit het tabblad 'Results' (Resultaten) in het venster Results (Resultaten) op het aanraakscherm van het NeuMoDx System. De resultaten van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 worden automatisch gegenereerd door de software van het NeuMoDx System, dat gebruikmaakt van het beslissingsalgoritme en de resultaatverwerkingsparameters die in het NeuMoDx EBV Quant Assay-assaydefinitiebestand (EBV Quant Assay Definition File, EBV Quant ADF versie 4.0.0 of hoger) worden vermeld. Een NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0-resultaat kan worden gerapporteerd als Negative (Negatief), Positive (Positief) met een gerapporteerde EBV-DNA-concentratie, Indeterminate (Onbepaald), No Result (Geen resultaat) of Unresolved (Onbekend), afhankelijk van de amplificatiestatus van het doelmateriaal en de monsterverwerkingscontrole. Resultaten worden gerapporteerd op basis van het ADF-beslissingsalgoritme voor verwerking van resultaten, volgens het overzicht in de onderstaande *tabel 1*.

Tabel 1: Interpretatie van de resultaten van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Resultaat	EBV-doelen	Monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control; SPC1)
Positive (Positief)	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) [2 ≤ Ct < 28 AND (EN) EPR > 1,3 AND (EN) EP > 1200] OR (OF) [28 < Ct < 38 AND (EN) EP > 1200]	N.v.t.
Positive (Positief), hoger dan de bovengrens voor kwantificering [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log₁₀ IE/ml)	[CONC] > 8,0 Log ₁₀ IE/ml, NO QUANT (geen quant)	N.v.t.
Positive (Positief), lager dan de ondergrens voor kwantificering [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log₁₀ IE/ml)	[CONC] < 1,48 Log ₁₀ IE/ml, NO QUANT (geen quant)	N.v.t.
Negative (Negatief)	NOT AMPLIFIED (NIET GEAMPLIFICEERD) N.v.t. OR (OF) [2 ≤ Ct < 28 AND (EN) EPR ≤ 1,3 AND (EN) EP > 1200] OR (OF) [28 ≤ Ct < 38 AND (EN) EP > 1200] OR (OF) Ct > 38	AMPLIFIED (GEAMPLIFICEERD) [29 < Ct < 35 and (en) EP ≥ 2000]
No Result* (Geen resultaat)	Not Amplified; System Error Detected; Sample Processing Aborted (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking afgebroken)	
Indeterminate* (Onbepaald)	Not Amplified; System Error Detected; Sample Processing Completed (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking voltooid)	
Unresolved* (Onbekend)	Not amplified, No System Error Detected (Niet geamplificeerd, Geen systeemfout gedetecteerd)	

EP = End Point Fluorescence (Fluorescentie op eindpunt); EPR = End Point Fluorescence Ratio (Verhouding van fluorescentie op eindpunt);
C_t = Cycle threshold (Cyclustrempel);

Quant = berekende hoeveelheid aanwezige EBV, uitgedrukt in log₁₀ IE/ml. Zie de paragraaf Testberekening hieronder.

* Het systeem is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) om automatische herverwerking mogelijk te maken in geval van een ongeldig resultaat, om vertragingen in het vermelden van resultaten te minimaliseren.

Testberekening: Monsters

1. Voor monsters binnen het lineaire bereik van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 wordt de concentratie EBV-DNA in de monsters berekend met behulp van de opgeslagen standaardcurve in combinatie met de kalibratiecoëfficiënt.
 1. De 'kalibratiecoëfficiënt' wordt berekend op basis van de resultaten van de NeuMoDx EBV Calibrators. Deze zijn verwerkt om de validiteit van de standaardcurve voor een specifieke partij NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 met een bepaald NeuMoDx System vast te stellen.
 2. De kalibratiecoëfficiënt wordt automatisch door het systeem meegenomen in de uiteindelijke bepaling van de concentratie EBV-DNA.
2. De resultaten van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 worden gerapporteerd in IE/ml en Log₁₀ IE/ml.
3. De resulterende kwantificering van de onbekende monsters is herleidbaar naar de 1e internationale norm van het WHO voor Epstein-barrvirus voor nucleïnezuuramplificatietechnieken.

Testberekening: Kalibrators

Om EBV-DNA in de specimens te kunnen kwantificeren, moet er een geldige kalibratie worden uitgevoerd op basis van de standaardcurve. Om geldige resultaten te genereren, moet een testkalibratie worden uitgevoerd met behulp van door NeuMoDx Molecular, Inc. geleverde kalibrators.

1. De NeuMoDx EBV Calibrators worden in een set geleverd [REF 800501] en bevatten niet-infectueus ingesloten EBV-doelmateriaal dat in Basematrix is bereid.
2. Bij elke nieuwe partij NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, wanneer een nieuw EBV-assaydefinitiebestand naar het NeuMoDx System wordt geüpload, wanneer de validiteitsperiode van de huidige set kalibrators is verstreken (momenteel ingesteld op 90 dagen) of wanneer de software van het NeuMoDx System is gewijzigd, moet een set EBV-kalibrators worden verwerkt.
3. De software van het NeuMoDx System geeft een melding wanneer de kalibrators moeten worden verwerkt. Er kan geen nieuwe partij teststrips worden gebruikt voor het uitvoeren van tests voordat de kalibrators zijn verwerkt.
4. De kalibratievaliditeit wordt als volgt vastgesteld:
 1. Er moet een set van twee kalibrators, een hoge en een lage, worden verwerkt om de validiteit vast te stellen.
 2. Om geldige resultaten te genereren, moeten ten minste 2 van de 3 replica's resultaten opleveren die zich binnen de vooraf gedefinieerde parameters bevinden. Het nominale doel voor de lage kalibrator is 3 Log₁₀ IE/ml en het nominale doel voor de hoge kalibrator is 5 Log₁₀ IE/ml.
 3. De kalibratiecoëfficiënt wordt berekend om verwachte variatie tussen partijen teststrips te verklaren; deze kalibratiecoëfficiënt wordt gebruikt bij het bepalen van de uiteindelijke EBV-DNA-concentratie.
5. Als één of beide kalibrators ongeldig worden verklaard, verwerkt u de ongeldige kalibrator(s) opnieuw met een nieuwe flacon. Als één kalibrator de validiteitstest niet heeft doorstaan, kunt u de test ook alleen met de gefaalde kalibrator herhalen, omdat het systeem niet vereist dat beide kalibrators opnieuw worden getest.
6. Als de kalibrator(s) twee opeenvolgende keren ongeldig worden verklaard, neemt u contact op met de technische diensten van QIAGEN.

Ongeldige resultaten

Als een NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 die met het NeuMoDx System geen geldig resultaat oplevert, wordt dit gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald), No Result (Geen resultaat) of Unresolved (Onbekend), afhankelijk van de fout die is opgetreden. In dat geval moet de test worden herhaald om een geldig resultaat te verkrijgen.

Een resultaat wordt gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald) als er een fout wordt gedetecteerd bij het NeuMoDx System tijdens de verwerking van het monster. In het geval van een Indeterminate (Onbepaald) resultaat wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als No Result (Geen resultaat) als er een fout wordt gedetecteerd bij het NeuMoDx System en de verwerking van het monster wordt afgebroken. In het geval van No Result (Geen resultaat) wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als Unresolved (Onbekend) als er geen doel is gedetecteerd en er geen amplificatie van de monsterverwerkingscontrole heeft plaatsgevonden. Dit wijst mogelijk op een reagensdefect of de aanwezigheid van remmers. In het geval van een Unresolved (Onbepaald) resultaat wordt in eerste instantie aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren. Als deze test ook een ongeldig resultaat oplevert, kan een verdund specimen worden gebruikt om het effect van mogelijke remming te verminderen (zie de paragraaf beperkingen voor verdere instructies).

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288 Molecular System (O/N: 40600108) of de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 96 Molecular System (O/N: 40600317) voor een lijst van de foutcodes die kunnen optreden bij Ongeldige resultaten.

Kwaliteitscontrole

Lokale regelgeving stelt meestal dat het laboratorium verantwoordelijk is voor controleprocedures om de nauwkeurigheid en precisie van het gehele analyseproces te bewaken. Ook moet zij het aantal, type en de frequentie van testcontrolemiddelen vaststellen met behulp van geverifieerde werkingsspecificaties voor een niet-gemodificeerd, goedgekeurd testsysteem.

Externe controles

1. QIAGEN stuurt met de NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502] externe controles mee dat niet-infectueus ingesloten EBV-materiaal in Basematrix bevat voor positieve controles of Basematrix voor negatieve controles.
2. Positieve en negatieve externe controles moeten iedere 24 uur worden verwerkt. Als er geen set met geldige externe controles bestaat, attendeert de software van het NeuMoDx System de gebruiker erop dat deze controles moeten worden verwerkt voordat monsterresultaten kunnen worden gerapporteerd:

NeuMoDx EBV External Controls	Expected Concentration (Verwachte concentratie)	Overzicht labelkleuren
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 IE/ml (4,18 log ₁₀ IE/ml)	Rood
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 IE/ml (2,18 log ₁₀ IE/ml)	Grijs
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	N.v.t.	Zwart

- Voor het verwerken van externe controles, plaatst u de controles in een specimenbuisjesdrager en plaatst u de drager vanuit het autoladerrek in het NeuMoDx System met behulp van het aanraakscherm. Het NeuMoDx System herkent de barcodes en begint met de verwerking van controles, tenzij voor de test benodigde reagentia of verbruiksartikelen niet aanwezig zijn.
- De validiteit van deze externe controles wordt door het NeuMoDx System beoordeeld op basis van de verwachte resultaten.

NeuMoDx EBV External Controls	EBV Quant-resultaat	SPC1-resultaat
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (EBV-POSITIEF) [Conc] 3,68-4,68 log ₁₀ IE/ml	SPC1-positief
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (EBV-POSITIEF) [Conc] 1,58-2,78 log ₁₀ IE/ml	SPC1-positief
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (EBV-NEGATIEF)	SPC1-positief

- In geval van afwijkende resultaten bij externe controles doet u het volgende:
 - Een Positive (positief) testresultaat dat voor een negatief controlemonster is gerapporteerd, kan contaminatie aantonen, en de kwaliteitscontroleprocedures van het laboratorium moeten onderzocht worden om een grondoorzaak vast te stellen. Zorg dat u gebruikmaakt van afzonderlijke gebieden voor monsterbereiding, controleverwerking en RT-PCR-opstelling. Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288/96 Molecular System* voor aanvullende adviezen over probleemoplossing.
 - Een Negative (negatief) resultaat dat wordt gerapporteerd voor een positieve controlemonster kan erop wijzen dat er een probleem is met de reagentia of het instrument.
 - In beide bovengenoemde gevallen of bij een No Result (Geen resultaat; NR), Unresolved (Onbekend; UNR) of Indeterminate (Onbepaald; IND) resultaat herhaalt u de mislukte controle met (een) nieuwe ontdoode flacon(s) van de controle(s) die de validiteitstest niet heeft/hebben doorstaan.
 - Als de positieve externe controle een Negative (Negatief) resultaat blijft opleveren, neemt u contact op met de technische diensten van QIAGEN.
 - Als de negatieve externe controle een Positive (Positief) testresultaat blijft opleveren, probeert u alle mogelijke besmettingsbronnen te verwijderen. U moet onder meer alle reagentia vervangen en de run herhalen, voordat u contact opneemt met de technische diensten van QIAGEN.
- Indien de externe controles niet de verwachte resultaten leveren, moet een reeks positieve en negatieve controles worden herhaald. Monsterresultaten worden niet gerapporteerd indien de controles niet de verwachte resultaten geven.
- Het NeuMoDx System is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) die de gebruiker kan gebruiken om ervoor te zorgen dat een INVALID (Ongeldig) resultaat automatisch opnieuw wordt verwerkt om vertragingen in de resultaatrapportage zoveel mogelijk te beperken.

(Interne) controles monsterverwerking

Een exogene monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC1) is in de NeuMoDx Extraction Plate opgenomen en ondergaat met elk monster/elke controle/elke kalibrator het hele proces van nucleïnezuurextractie en realtime RT-PCR-amplificatie. Elke NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 bevat primers en een probe die specifiek zijn voor SPC1. Dankzij deze SPC1 kan het NeuMoDx System de effectiviteit van de DNA-extractie en het RT-PCR-amplificatieproces controleren.

PRESTATIEKENMERKEN

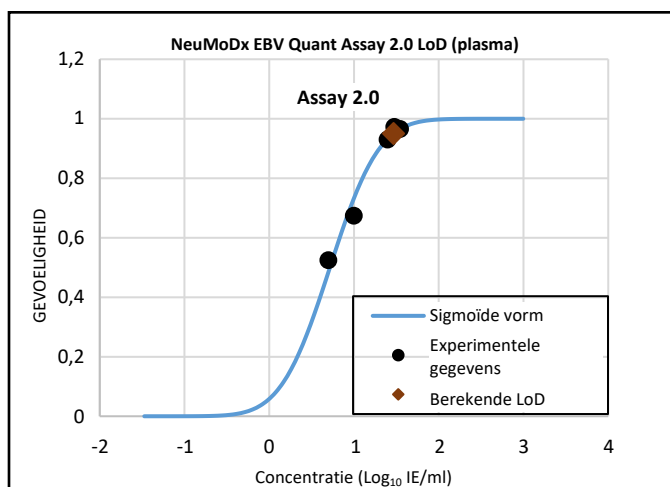
ANALYTISCHE GEVOELIGHEID – Detectielimiet

De analytische gevoeligheid van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 werd gekenmerkt in twee sequentiële fasen: 1. Voorlopige beoordeling van de detectielimiet (Limit of Detection, LoD) (probitanalyse), gevolgd door 2. LoD-bevestiging. In deel 1 werden negatieve specimina en een verdunningsreeks van de 1e internationale norm van de WHO in gescreend EBV negatief menselijk plasma getest om de voorlopige LoD in de NeuMoDx Systems vast te stellen. De voorlopige LoD werd bepaald als het laagste doelniveau waarbij 95% werd gedetecteerd, zoals vastgesteld met een probitanalyse. In deel 2 werd de voorlopige LoD bevestigd door een kunstmatig panel op het LoD-niveau te testen. Beide fasen van de studie werden uitgevoerd over een periode van 3 dagen, met meerdere systemen en met meerdere partijen NeuMoDx-reagentia. In deel 1 werden in totaal 144 replica's op elk verdunningsniveau verwerkt. De detectiepercentages zijn weergegeven in tabel 2.

Tabel 2: Bepaling voorlopige LoD van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Doelwitconcentratie [IE/ml]	Doelwitconcentratie [log ₁₀ IE/ml]	PLASMA		
		Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage
35	1,54	144	139	96,5%
30	1,48	144	140	97,2%
25	1,40	143	133	93,0%
10	1,00	144	97	67,4%
5	0,70	143	75	52,4%
NEG	---	144	0	0,0%

De LoD van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 in plasma met gebruik van de 1^e internationale norm van de WHO werd vastgesteld op 29,3 IE/ml (1,47 log₁₀ IE/ml) met een 95%-betrouwbaarheidsinterval (BI) van 24,4 tot 37,1 IE/ml (1,39 tot 1,57 Log₁₀ IE/ml) [Afbeelding 1]. Deze LoD werd vervolgens bevestigd aan de hand van een trefpercentage-analyse die is weergegeven in tabel 3.



Afbeelding 1: Probitanalyse die werd gebruikt om de LoD van de NeuMoDx EBV Quant 2.0 te bepalen voor plasmamonsters

Tabel 3: Bevestiging LoD van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Systeem	Doelwitconcentratie [IE/ml]	Doelwitconcentratie [log ₁₀ IE/ml]	Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage
N96	29,3	1,47	96	94	97,9%
N288			96	92	95,8%
Alle			192	186	96,9%

De LoD voor EBV-genotype 2 (GT2) werd vastgesteld op 29,3 IE/ml [1,47 Log₁₀ IE/ml] aan de hand van een trefpercentage-analyse.

Op basis van de resultaten van beide onderzoeken wordt de LoD van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 vastgesteld op 29,3 IE/ml [1,47 Log₁₀ IE/ml].

ANALYTISCHE GEVOELIGHEID – Ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

De LLoQ is gedefinieerd als de laagste doelconcentratie waarbij een detectie van > 95% werd bereikt EN de totale analytische fout (total analytical error, TAE) ≤ 1,0 was. Om de LLoQ te bepalen, werd de TAE berekend voor elke EBV-doelconcentratie waarbij er een detectie van > 95% werd gerapporteerd als onderdeel van de LoD-berekening. TAE wordt als volgt gedefinieerd:

$$\text{TAE} = \text{vertekening} + 2 \cdot \text{SD} \text{ (Westgard-statistiek)}$$

De vertekening is de absolute waarde van het verschil tussen het gemiddelde van de berekende concentratie en de verwachte concentratie. SD verwijst naar de standaardafwijking (Standard Deviation) van de gekwantificeerde waarde van het monster.

De verzamelde resultaten voor de 5 concentraties van de 1^e internationale norm van de WHO voor EBV-plasmaspecimens die bij het LLoQ-onderzoek werden gebruikt, zijn weergegeven in tabel 4. Op basis van deze gegevensset en de eerder vastgestelde LoD werd de LLoQ vastgesteld op 30,0 IE/ml (1,48 Log₁₀ IE/ml) en vervolgens bij EBV-genotype 2 (GT2) bevestigd.

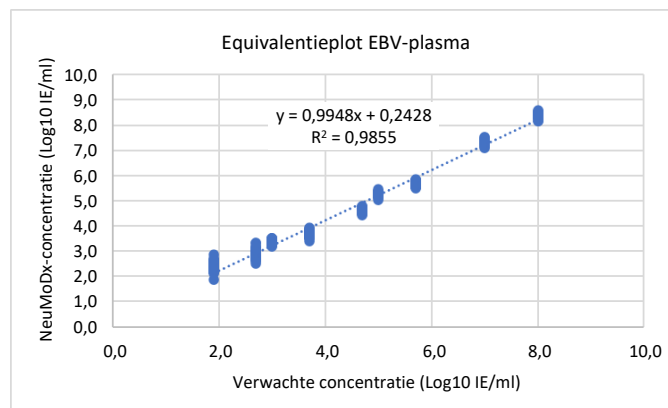
Tabel 4: LLoQ NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, met vertekening en TAE

Doelconcentratie [IE/ml]	Doelconcentratie [\log_{10} IE/ml]	Plasma				
		Gemiddelde conc. [\log_{10} IE/ml]	Detectiepercentage	SD	Vertekening	TAE
35	1,54	2,05	96,5%	0,23	0,50	0,96
30	1,48	1,97	97,2%	0,24	0,49	0,98
25	1,40	1,93	93,0%	0,24	0,53	1,02
10	1,00	1,96	67,4%	0,31	0,96	1,59
5	0,70	1,83	52,4%	0,27	1,13	1,68

Op basis van de uitkomsten van deze studies is de LoD van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 vastgesteld op 29,3 IE/ml (1,47 \log_{10} IE/ml) en de LLoQ werd vastgesteld op 30,0 IE/ml [1,48 \log_{10} IE/ml].

Lineariteit en het bepalen van de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

De lineariteit en de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 werden in plasma vastgesteld door een reeks verdunningen te bereiden met het NeuMoDx ingesloten EBV-doelmateriaal en ATCC EBV-cultuur (ATCC, Manassas, VA) met een vastgestelde herleidbaarheid naar de 1^e internationale norm van de WHO voor EBV, naast de 1^e internationale norm van de WHO voor EBV. Er werd een 10-ledenpanel bereid in gebundeld EBV-negatief plasma om een panel te creëren met een concentratiebereik van 1,48-8,0 \log_{10} IE/ml. De ULoQ van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 werd vastgesteld op 8,0 \log_{10} IE/ml. Er werd een controlepanel bereid om de lineariteit van de standaardcurve te beoordelen. De EBV-assayconcentraties die werden gerapporteerd door het NeuMoDx System zijn vergeleken met de verwachte waarden en weergegeven in *Afbeelding 2*.



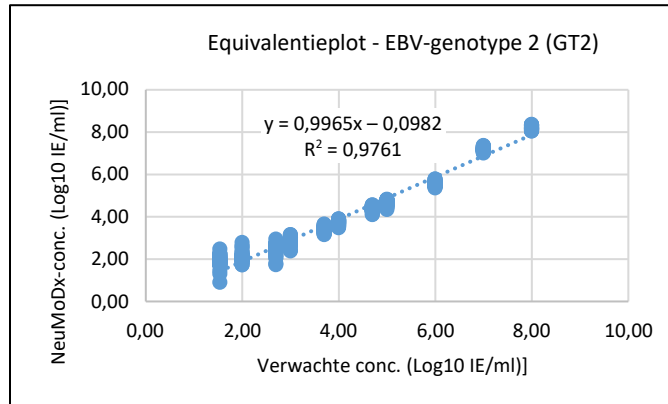
Afbeelding 2: Lineariteit van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Lineariteit van EBV-genotype 2 (GT2)

De lineariteit van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 bij EBV-genotype 2 (GT2) werd gekenmerkt door elf verschillende concentraties van EBV GT2 te testen, met vastgestelde herleidbaarheid naar de 1^e internationale norm van de WHO voor EBV, bereid in gepoold EBV-negatief plasma. Het onderzoek werd uitgevoerd door 36 replica's bij 11 concentraties in 2 NeuMoDx Systems en 3 partijen EBV Quant Test Strips 2.0 te testen. De lineariteit voor EBV-genotype 2 (GT2) wordt weergegeven in *tabel 5* en *afbeelding 3*.

Tabel 5: Lineariteit van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 voor EBV-genotype 2

Genotype	Lineariteitsvergelijking	
	y = kwantificering NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0	R ²
GT2	x = verwachte kwantificering $y = 0,9965x - 0,0982$	0,9761



Afbeelding 3: Lineariteit van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 voor EBV-genotype 2

Analytische specificiteit – kruisreactiviteit

De analytische specificiteit is aangetoond door 36 organismen die kunnen voorkomen in bloed-/plasma-specimens en soorten die fylogenetisch vergelijkbaar zijn met EBV te testen op kruisreactiviteit. Er werden hoge concentraties met organismen bereid in groepen van 5-6 organismen. De geteste organismen staan in *tabel 6*. Bij geen enkel getest organisme werd kruisreactiviteit waargenomen, waardoor bevestigd is dat de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 een analytische specificiteit van 100% heeft.

Tabel 6: Gebruikte pathogenen voor het aantonen van analytische specificiteit

Niet-doelorganismen					
BK-polyomavirus	Adenovirus type 5	Herpes-simplexvirus type 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Cytomegalovirus	Hepatitis C-virus	Herpes-simplexvirus type 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humaan herpesvirus type 6	Parvovirus B19	Varicella-zostervirus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Humaan herpesvirus type 7	JC-virus	Hiv 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Humaan herpesvirus type 8	Humaan papillomavirus 16	Hiv 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitis B-virus	Humaan papillomavirus 18	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

Analytische specificiteit – Interfererende stoffen, commensale organismen

De NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 werd beoordeeld op interferentie in de aanwezigheid van niet-doelorganismen met behulp van dezelfde organismegroepen die voor de kruisreactiviteitstest waren bereid, zoals hierboven beschreven in *tabel 6*. EBV-negatief plasma werd verrijkt met 4-7 groepen organismen; deze groepen werden vervolgens verrijkt met EBV-doelmateriaal van 90 IE/ml [1,95 Log₁₀ IE/ml]. Er werd geen significante interferentie waargenomen in de aanwezigheid van deze organismen, wat wordt aangeduid met de minimale afwijking in kwantificering met de controlespecimens die geen interfererend middel bevatten.

Analytische specificiteit – Interfererende stoffen, endogene en exogene stoffen

De NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 werd beoordeeld in de aanwezigheid van typische exogene en endogene interfererende stoffen die in klinische EBV-plasma-specimens kunnen voorkomen. Dergelijke stoffen bevatten abnormaal hoge gehalten aan bloedbestanddelen en veelvoorkomende antivirale en immunosuppressieve geneesmiddelen, zoals geclassificeerd in *tabel 7*. Iedere stof werd toegevoegd aan gescreend EBV-negatief menselijke plasma dat was verrijkt met EBV bij 90 IE/ml [1,95 Log₁₀ IE/ml]. Vervolgens werden de monsters geanalyseerd op interferentie door de gerapporteerde concentratie te vergelijken met de positieve controle. Daarnaast werd plasma met veelvoorkomende ziektekiemen die met een EBV-infectie worden geassocieerd, ook op mogelijke interferentie getest. De gemiddelde concentratie en vertekening van alle geteste stoffen in vergelijking met de controlemonsters die met dezelfde EBV-concentratie waren verrijkt, zijn weergegeven in *tabel 8*. Geen van de exogene en endogene stoffen had invloed op de specificiteit van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

Tabel 7: Interferentietests - Exogene stoffen (geneesmiddelclassificaties)

Pool	Naam van het geneesmiddel	Classificatie	Pool	Naam van het geneesmiddel	Classificatie
Pool 1	Azathioprine	Immuunsuppressivum	Pool 4	Trimethoprim	Antibioticum
	Cyclosporine	Immuunsuppressivum		Vancomycine	Antibioticum
	Foscarnet	Antiviraal middel (Herpesvirussen)		Tacrolimus	Immuunsuppressivum
	Ganciclovir	Antiviraal middel (EBV)		Everolimus	Immuunsuppressivum
	Valganciclovirhydrochloride	Antiviraal middel (EBV)		Clavulaanzuur	Antibioticum
Pool 2	Prednison	Corticosteroïde/ immuunsuppressivum	Pool 5	Famotidine	Histaminereceptorantagonist
	Cidofovir	Antiviraal middel (EBV)		Sulfamethoxazol	Antibioticum
	Cefotetan	Antibioticum (breed spectrum)		Valacyclovir	Antiviraal middel (Herpesvirussen)
	Cefotaxim	Antibioticum (breed spectrum)		Letemovir	Antiviraal middel (EBV)
	Fluconazol	Antischimmelmiddel		Ticarcilline-dinatrium	Antibioticum
Pool 3	Mycofenolaatmofetil	Immuunsuppressivum	Leflunomide	Immuunsuppressivum	
	Mycofenolaatnatrium	Immuunsuppressivum			
	Piperacilline	Antibioticum			
	Sirolimus (rapamycine)	Immuunsuppressivum			
	Tazobactam	Gemodificeerd antibioticum			

Tabel 8: Interferentietests – Endogene en exogene stoffen

Endogeen + ziektebeeld	Gemiddelde conc.	Vertekening
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Hemoglobine	2,19	0,32
Triglyceriden	1,90	0,02
Bilirubine	2,12	0,24
Albumine	1,95	0,07
Systemische lupus erythematoses (SLE)	2,08	0,20
Antinucleair antilichaam (ANA)	2,36	0,48
Reumatoïde artritis (RA)	1,89	0,01
Positieve controle	1,88	N.v.t.
Exogeen (geneesmiddelen)	Gemiddelde conc.	Vertekening
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Pool 1: Azathioprine, cyclosporine, foscarnet, ganciclovir, valganciclovirhydrochloride	2,19	0,09
Pool 2: Prednison, cidofovir, cefotetan, cefotaxim, fluconazol	2,11	0,01
Pool 3: Mycofenolaatmofetil, mycofenolaatnatrium, piperacilline, sirolimus (rapamycine), tazobactam	2,16	0,06
Pool 4: Trimethoprim, vancomycine, tacrolimus, everolimus, clavulaanzuur	2,24	0,14
Pool 5: Famotidine, sulfamethoxazol, letemovir, valacyclovir, ticarcilline-dinatrium, leflunomide	2,26	0,16
Positieve controle	2,10	N.v.t.

Binnen-laboratoriumprecisie

De precisie van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 is bepaald door 3 replica's van een 6-ledenpanel van EBV-specimen, bereid met NeuMoDx EBV Positive Control en EBV-cultuur (ATCC, Manassas, VA) tweemaal per dag gedurende 12 dagen te testen met twee NeuMoDx 288 Systems en twee NeuMoDx 96 Systems. De precisie binnen een run, binnen een dag en binnen een systeem werd gekenmerkt en de algehele standaardafwijking bedroeg $\leq 0,18$ Log₁₀ IE/ml. Er werd een hoge precisie aangetoond binnen verschillende systemen, dagen of analyses, zoals weergegeven in *tabel 9*. Het verschil in precisie tussen bedieners is niet gekenmerkt, aangezien de bediener geen significante rol speelt bij het verwerken van monsters met het NeuMoDx System.

Tabel 9: Binnen-laboratoriumprecisie – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 met NeuMoDx Systems

Doel-EBV-concentratie [Log ₁₀ IE/ml]	Gemiddelde EBV-concentratie [Log ₁₀ IE/ml]	SD binnen een systeem	SD binnen een dag	SD binnen een run	Totaal SD (binnen laboratorium)
7,70	7,82	0,10	0,08	0,08	0,11
6,00	6,07	0,12	0,11	0,11	0,13
5,00	4,75	0,13	0,12	0,11	0,13
4,00	3,78	0,13	0,11	0,11	0,14
3,00	2,93	0,15	0,14	0,13	0,16
1,95	2,19	0,17	0,16	0,16	0,18

Reproduceerbaarheid van partij tot partij

De reproduceerbaarheid van partij tot partij van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 is vastgesteld door het testen van 3 partijen NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 en als onderdeel van de studie Binnen-laboratoriumprecisie. De prestaties zijn beoordeeld met een 6-ledenpanel van EBV-positieve plasma (Tabel 10). De resultaten die voor de partijen zijn gegenereerd, werden geanalyseerd en de resultaten worden weergegeven in tabel 10. De maximale vertekening was 0,29 Log₁₀ IE/ml en de maximale SD was 0,18 Log₁₀ IE/ml voor NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0. De gelijkwaardige prestaties tussen partijen werden aangetoond, aangezien de kwantificering van alle panelleden binnen de tolerantiespecificatie viel.

Tabel 10: Reproduceerbaarheid tussen partijen – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, Test Strip

Verwachte conc. (Log ₁₀ IE/ml)	Partij 1			Partij 2			Partij 3		
	Gemiddelde conc. (Log ₁₀ IE/ml)	Log Conc SD	Abs. vertekening	Gemiddelde conc. (Log ₁₀ IE/ml)	Log Conc SD	Abs. vertekening	Gem. concentratie (Log ₁₀ IE/ml)	Log Conc SD	Abs. vertekening
7,70	7,82	0,11	0,12	7,84	0,10	0,14	7,79	0,09	0,09
6,00	6,08	0,12	0,08	6,10	0,10	0,10	6,04	0,10	0,04
5,00	4,77	0,13	0,23	4,78	0,13	0,22	4,71	0,10	0,29
4,00	3,80	0,15	0,20	3,81	0,13	0,19	3,74	0,11	0,26
3,00	2,96	0,16	0,04	2,96	0,15	0,04	2,87	0,16	0,13
1,95	2,20	0,18	0,25	2,22	0,18	0,27	2,16	0,16	0,21

Effectiviteit van monsterverwerkingscontrole

De NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 bevat een monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC1) om fouten in de processtappen of remmingen die de prestaties van de assay beïnvloeden, te rapporteren. Met behulp van de NeuMoDx CMV Quant Assay als model werd de effectiviteit van SPC1 voor plasmaspecimens getest onder omstandigheden die representatief zijn voor de cruciale procesfouten die kunnen optreden tijdens het verwerken van de monsters en die *mogelijk niet worden opgemerkt* door de prestatiebewakingssensoren van het NeuMoDx System. Cytomegaloviruspositieve (bij 3 Log₁₀ IE/ml) en -negatieve specimens werden getest onder de volgende omstandigheden: aanwezigheid van remmer, geen Wash-oplossing afgegeven en geen Wash-lek. Procesinefficiënties die een ongewenst effect hadden op de detectie/kwantificering van viraal doelmateriaal werden weerspiegeld door de prestaties van het SPC1-doelmateriaal zoals weergegeven in tabel 11. In alle geteste gevallen werd aangetoond dat de procesinefficiënties en de aanwezigheid van remmers op adequate wijze werd gemonitord door de monsterverwerkingscontrole of dat de verwachte procesinefficiëntie geen significant nadelig effect had op de detectie van SPC1 of op de detectie en kwantificering van viraal doelmateriaal. Hiermee is aangetoond dat de assayprestaties effectief kunnen worden bewaakt met SPC1 op het NeuMoDx System.

Tabel 11: Effectiviteit van de monsterverwerkingscontrole voor viraal DNA in plasma*

Procesfout getest	Amplificatiestatus monsterverwerkingscontrole 1	Amplificatiestatus CMV-doelmateriaal	Resultaat assay
Presence of Inhibitor (Aanwezigheid van remmer)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Unresolved (Onbekend)
No Wash Delivered (Geen Wash-oplossing afgegeven)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Unresolved (Onbekend)
No Wash Blowout (Geen Wash-lek)	Amplified (Geamplificeerd)	Amplified (Geamplificeerd)	Positive (Positief) met kwantificering in 0,3 log ₁₀ IE/ml controle

*Om de effectiviteit van de monsterverwerkingscontrole te beoordelen, zijn plasmaspecimens met cytomegalovirus (CMV) gebruikt als modelsysteem.

Kruisbesmetting

Het kruisbesmettingspercentage van plasmaspecimens is vastgesteld door het wisselende verwerken van hoog-positieve en negatieve monsters van EBV. Er zijn vijf sets van dergelijke dambordtesten uitgevoerd met in totaal 60 replica's van EBV-negatief plasma en 60 replica's van met EBV verrijkt plasma met 6,0 Log₁₀ IE/ml in beide NeuMoDx 288/96 Molecular Systems. Bij beide systeemtypen werden alle 120 replica's van het negatieve specimen als negatief gerapporteerd, wat aantoont dat er geen kruisbesmetting was tijdens de verwerking van de plasmamonsters op de NeuMoDx Systems.

Matrxequivalentie van het specimen

De test werd uitgevoerd om de equivalentie aan te tonen tussen verse en bevroren plasmaspecimens met behulp van een vergelijkbaar bloedoverdraagbaar virus, CMV, als model. Verse specimens werden bij een temperatuur van 4 °C bewaard tot ze werden verrijkt met drie CMV-concentraties en ze op equivalentie werden getest. De monsters werden minstens 24 uur bevroren op -20 °C. Na deze periode van bevroren opslag werden de specimens ontdooid en opnieuw getest. De equivalentie is bepaald door de resultaten van verse versus bevroren plasmaspecimens te vergelijken aan de hand van een regressieanalyse. Uit deze gegevens blijkt dat er een uitstekende equivalentie bestaat tussen verse en bevroren plasmaspecimens met een helling van 1,0 en een zeer lage vertekening (intercept), zoals hieronder weergegeven in tabel 12.

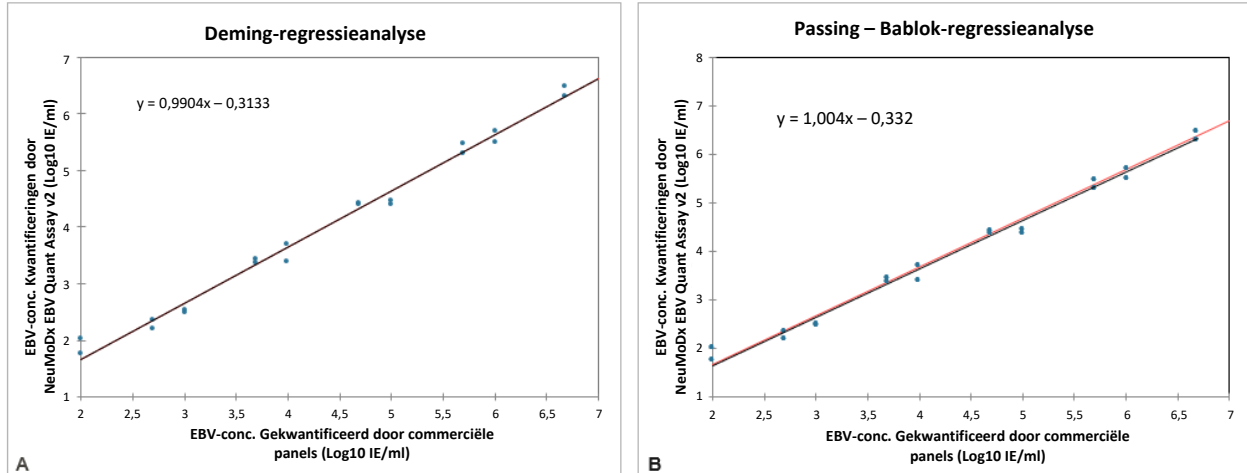
Tabel 12: Equivalentie specimenmatrix

Parametervereiste	Vers vs. Bevroren EDTA
Helling [0,9-1,1]	1,000
Intercept < 0,5 Log ₁₀ IE/ml	0,020
<i>p</i> -waarde > 0,05	0,631

Kenmerking kwantificerende prestaties

De kwantitatieve prestaties van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 zijn gekenmerkt door het verwerken van twee commerciële EBV-verificatiepanelen van AcroMetrix en Exact Diagnostics (herleidbaar naar de 1^e internationale norm van het WHO voor EBV) met de NeuMoDx Molecular Systems.

Er werd een uitstekende correlatie verkregen tussen de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 en de twee commerciële EBV-verificatiepanelen (afbeelding 4) toen deze werden geanalyseerd met behulp van de Deming-regressiemethode (afbeelding 4A) of de Passing-Bablok-methode (afbeelding 4B).



Afbeelding 4. Equivalentieplot tussen verificatiepanelen van AcroMetrix en Exact Diagnostics en de NeuMoDx EBV Quant Assay.

A. Lineaire-regressieanalyse aan de hand van de Deming-methode. B. Lineaire-regressieanalyse aan de hand van de Passing-Bablok-methode.

De kwaliteit van de Deming-regressieanalyse blijkt uit een algehele hellingscoëfficiënt van 0,990 en een intercept (vertekening) van -0,313, wat aantoont dat de concentratieresultaten van de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 en de EBV-verificatiepanelen met elkaar correleren en een aanvaardbare vertekening hebben. De Passing-Bablok-lineaireitsanalyse onderbouwt daarbij de significantie van de correlatie tussen de resultaten die werden verkregen met de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 en EBV-verificatiepanelen met een algehele hellingscoëfficiënt van 1,004 en een intercept (vertekening) van -0,332. De *p*-waarde van de Passing-Bablok-analyse is vastgesteld op 0,988.

Tabel 13: Overzicht van de lineaire regressieanalyse van Deming en Passing-Bablok

Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
Intercept	Hellingscoëfficiënt	Intercept	Hellingscoëfficiënt
-0,313	0,990	-0,332	1,004
95%-BI (-0,620, -0,007)	95%-BI (0,928, 1,053)	95%-BI (-0,548, -0,116)	95%-BI (0,950, 1,047)

LITERATUUR

1. Epstein-Barr virus infection. [N Engl J Med.](#) 2000 Aug 17;343(7):481-92.
2. Epstein-Barr Virus–Positive Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Management. [Transplant Direct.](#) 2016 Jan; 2(1): e48.
3. About Epstein-Barr Virus (EBV).” Centers for Disease Control and Prevention, Centers for Disease Control and Prevention, 28 Sept. 2020, www.cdc.gov/epstein-barr/about-ebv.html
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
5. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

HANDELSMERKEN

NeuMoDx™ is een handelsmerk van NeuMoDx Molecular, Inc.
















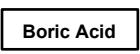

NeuDry™ is een handelsmerk van NeuMoDx Molecular, Inc.

Seracare® is een gedeponeerd handelsmerk van Seracare Life Sciences, Inc.

TaqMan® is een gedeponeerd handelsmerk van Roche Molecular Systems, Inc.

Alle andere productnamen, handelsmerken en gedeponeerde handelsmerken die in dit document kunnen voorkomen, zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

LIJST MET SYMBOLEN

	Gebruik uitsluitend op voorschrift		Inhoud voldoende voor <n> tests
	Fabrikant		Raadpleeg de gebruikshandleiding
	Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek		Let op
	Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap		Gezondheidsgevaar
	Catalogusnummer		CE-markering
	Batchcode		Bevat
	Uiterste gebruiksdatum		Bevat biologisch materiaal van dierlijke oorsprong
	Temperatuurbeperring		Boorzuur
	Niet hergebruiken		



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Technische ondersteuning/alderheidsmeldingen: support@giagen.com

Octrooi: www.neumodx.com/patents

