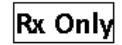




### 201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

**VOORZICHTIG: Voor VS: uitsluitend bestemd voor export**



Voor *in-vitro* diagnostisch gebruik met de NeuMoDx™ 288 en NeuMoDx™ 96 Molecular Systems

*Lees deze bijsluiter aandachtig voordat u het product gebruikt. De instructies in de bijsluiter moeten altijd opgevolgd worden. De betrouwbaarheid van assayresultaten kan niet gegarandeerd worden indien er wordt afgeweken van de instructies in deze bijsluiter.*



*Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx™ 288 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600108  
Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx™ 96 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600317*



### BEOOGD GEBRUIK

De NeuMoDx™ BKV Quant Assay is een geautomatiseerde *in-vitro* nucleïnezuuramplificatietest voor de identificatie en kwantificering van DNA van BK-virus (BKV) in monsters uit menselijk plasma/serum en urine. De NeuMoDx BKV Assay, zoals geïmplementeerd in het NeuMoDx™ 288 Molecular System en het NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx™ System(s)) maakt gebruik van geautomatiseerde DNA-extractie om het doelnucleïnezuur van het specimen te isoleren en van een realtime polymerasekettingreactie (Polymerase Chain Reaction; PCR) om zich te richten op de sequenties in het BKV-genoom.

De NeuMoDx BKV Quant Assay is bestemd als hulpmiddel bij de diagnose en monitoring van infectie met het BK-virus, samen met andere klinische en laboratoriumbevindingen.

### SAMENVATTING EN UITLEG

Voor de bereiding van plasma kan menselijk volbloed worden gebruikt, dat verzameld is in steriele bloedafnamebuisjes met EDTA als antistollingsmiddel of in plasmabereidingsbuisjes (Plasma Preparation Tubes; PPT); serum moet in serumafnamebuisjes of -scheidingsbuisjes (Serum Separation Tubes; SST) worden verzameld. Voor het testen van urine is een urinespecimen nodig dat is verzameld in een standaard opvangbeker zonder conserveermiddelen of toevoegingen. Ter voorbereiding op de test wordt het plasma/serum of de urine overgebracht naar een primair of secundair specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx™ System. Dit buisje wordt in een speciale specimen drager in het NeuMoDx™ System geplaatst om de automatische verwerking in gang te zetten. Voor plasma/serum-specimens wordt een aliquot van 550 µl van het monster gemengd met NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 uit het instrument, of wordt een aliquot van 100 µl van het plasma/serummonster gemengd met NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. Voor urinemonsters wordt een aliquot van 550 µl van het monster gemengd met NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 uit het instrument. Het NeuMoDx™ System voert automatisch alle stappen uit die nodig zijn voor het extraheren van het nucleïnezuur doelmateriaal, het voorbereiden van het geïsoleerde DNA voor realtime PCR-amplificatie en, indien aanwezig, het amplificeren en detecteren van de amplificatieproducten. De NeuMoDx™ BKV Quant Assay omvat een DNA-monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control; SPC1) als hulpmiddel voor het opsporen van zowel mogelijke remmers als fouten van het NeuMoDx™ System of van reagentia die tijdens het extractie- en het amplificatieproces kunnen optreden.

BK-polyomavirus (BKV) maakt deel uit van de Polyomaviridae-familie van virussen met dubbelstrengs DNA (double-stranded DNA; dsDNA). BKV veroorzaakt een veelvoorkomende infectie op jonge leeftijd zonder belangrijke klinische gevolgen en > 80% van de volwassenen is seropositief voor BKV.<sup>1</sup> De primaire infectie met dit dsDNA-virus is doorgaans asymptomatisch en vindt in de kindertijd plaats. De meestvoorkomende symptomen, indien er al symptomen optreden, zijn koorts en niet-specifieke infectie van de bovenste luchtwegen.<sup>2</sup> Na de primaire infectie kan het virus op veel plaatsen latent blijven, vooral de nier. De overdracht kan gebeuren door blootstelling aan lichaamsvloeistoffen. In toestanden van relatieve of absolute cellulaire immunodeficiëntie kan het virus opnieuw worden geactiveerd en leiden tot ziekte.<sup>2</sup>

De PCR-gebaseerde kwantificering van de virale belasting in plasma/serum en urine is het standaard klinische hulpmiddel voor de monitoring van BKV-reactivering. Studies met kwantitatieve BKV PCR-resultaten tonen aan dat er een positieve correlatie is tussen hogere virale belastingen en een hogere kans op de ontwikkeling van BKV-geassocieerde nefropathie (BKV-Associated Nephropathy; BKVAN)<sup>1</sup>. Een andere klinisch hulpmiddel om BKV-aggregaten in urine te beschrijven is elektronenmicroscopie van de cilinderrachtige driedimensionale BKV-aggregaten. De assay is echter niet uitvoerbaar wegens de kostprijs en beperkte beschikbaarheid van elektronenmicroscopie.<sup>1</sup>

### UITGANGSPUNT VAN DE PROCEDURE

Voor het uitvoeren van de analyse maakt de NeuMoDx™ BKV Quant Assay op het NeuMoDx™ System gebruik van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, NeuMoDx™ BKV External Control Kit, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, NeuMoDx™ Lysis Buffer 2, NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 en reagentia van NeuMoDx™ voor algemeen gebruik. De opslagtemperatuur van de reagentia is +15/+30 °C.

De NeuMoDx™ BKV Quant Assay combineert geautomatiseerde extractie, amplificatie en detectie van DNA door realtime PCR. Plasma/serum- of urinespecimens worden overgebracht naar primaire of secundaire specimenbuisjes die compatibel zijn met het NeuMoDx™ System en vervolgens in het NeuMoDx™ System 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 remmende stoffen te verwijderen. De vrijgekomen nucleïnezuuren worden opgevangen door paramagnetische deeltjes. De deeltjes met de gebonden nucleïnezuuren worden in de NeuMoDx™ Cartridge geplaatst, waar vervolgens de ongebonden bestanddelen die geen DNA zijn, worden weggevoerd met het NeuMoDx™ Wash Reagent en het gebonden DNA wordt geëluëerd met het NeuMoDx™ Release Reagent.

De NeuMoDx™ Systems doordrenken daarna de bedrijfseigen gevriesdroogde Sentinel CH-amplificatiereagentia (STAT-NAT®-technologie) met het geëluëerde DNA. De reagentia bevatten alle elementen die nodig zijn voor PCR-amplificatie van het BKV-specifieke doelmateriaal en SPC1-doelmateriaal. Na reconstitutie van de gevriesdroogde 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 ontworpen om het amplificaat na realtime PCR te bevatten, waardoor het risico op verontreiniging na amplificatie vrijwel volledig wordt weggenomen.

De geamplificeerde doelen worden in real time 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 fluorescente signaal dat wordt gedetecteerd in de kwantitatieve PCR-thermocyclor van het NeuMoDx™ System is recht evenredig aan de vrijgekomen fluorofoor en kan worden gecorreleerd met de hoeveelheid doel-DNA dat aanwezig is.<sup>3</sup>

TaqMan®-probes gemerkt met fluoroforen aan het 5'-uiteinde en quenchers aan het 3'-uiteinde worden gebruikt voor detectie van BKV-DNA en SPC1-DNA. 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 einduitslag POSITIVE (Positief), NEGATIVE (Negatief), INDETERMINATE (Onbepaald), UNRESOLVED (Onbekend) of NO RESULT (Geen resultaat). Indien een resultaat positief is en de berekende concentratie ligt binnen de grenzen voor kwantificering, geeft de software van het NeuMoDx System ook een kwantitatieve waarde verbonden aan het monster op.

### REAGENTIA/VERBRUIKSARTIKELN

#### Meegeleverde materialen

REF	Inhoud	Eenheden per pakket	Tests per eenheid	Tests per verpakking
201800	<b>NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip</b> <i>Gevriesdroogde PCR-reagentia met BKV-specifieke TaqMan®-probes en -primers, samen met SPC1-specifieke TaqMan®-probe en -primers.</i>	6	16	96

#### Reagentia en verbruiksartikelen die benodigd zijn, maar niet worden meegeleverd (afzonderlijk verkrijgbaar via NeuMoDx)

REF	Inhoud
100200	<b>NeuMoDx™ Extraction Plate</b> <i>Gedroogde paramagnetische deeltjes, lytisch enzym en monsterverwerkingscontroles</i>
800600	<b>NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit</b> <i>Sets met hoog en laag gedroogde BKV-kalibratoren voor eenmalig gebruik om de validiteit van de standaardcurve vast te stellen</i>
900601	<b>NeuMoDx™ BKV External Control Kit</b> <i>Sets met BKV positieve gedroogde controles en negatieve controles voor eenmalig gebruik om dagelijks de validiteit van de NeuMoDx BKV Quant Assay vast te stellen</i>
400400	<b>NeuMoDx™ Lysis Buffer 1</b>
400500	<b>NeuMoDx™ Lysis Buffer 2</b>
400900	<b>NeuMoDx™ Lysis Buffer 5</b>
400100	<b>NeuMoDx™ Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx™ Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx™ Cartridge</b>
235903	<b>Hamilton CO-RE-tips (300 µl) met filters</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE-tips (1000 µl) met filters</b>

### Benodigde instrumenten

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

### WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- De NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip is uitsluitend geschikt voor *in-vitro* diagnostisch gebruik in combinatie met NeuMoDx™ Systems.
- Lees alle instructies in de bijsluiters van de kit voordat u de test uitvoert.
- 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.
- Meng geen reagentia voor amplificatie uit andere commerciële kits.
- Niet hergebruiken.
- Bescherm alle NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips tegen licht en vocht in hun aluminium verpakkingen.
- Er moet een geldige testkalibratie beschikbaar zijn (verkregen door het verwerken van hoge en lage kalibrators uit de NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit [REF 800600]) voordat er testresultaten kunnen worden gegenereerd voor klinische monsters.
- De NeuMoDx™ BKV External Control Kit (REF 900601) moet om de 24 uur worden verwerkt door het testen met de NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- Het minimale specimenvolume is afhankelijk van de grootte van het buisje, de specimendrager en de workflow van het specimenvolume volgens de onderstaande specificaties. Een volume onder het opgegeven minimum kan leiden tot de fout 'Quantity Not Sufficient' (Te weinig volume).
- Het uitvoeren van een BKV-assay op specimina die bij een ongeschikte temperatuur of langer dan de gespecificeerde opslagtijd zijn bewaard, kan leiden tot ongeldige of foutieve resultaten wanneer u gebruikmaakt van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Voorkom besmetting van reagentia en verbruiksartikelen met microben en deoxyribonuclease (DNase) te allen tijde. Bij het gebruik van secundaire specimenuitrusting 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 besmetting 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 besmetting te voorkomen.
- Let goed op dat de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, de aanvullende benodigde verbruiksartikelen en reagentia voor de test, de persoonlijke beschermingsuitrusting zoals handschoenen en een laboratoriumjas en het NeuMoDx™ System niet worden gecontamineerd 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 folielag van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip of de NeuMoDx™ Extraction Plate, of de bovenkant van de containers met NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 en 5 niet aanraakt; pak de verbruiksartikelen en reagentia alleen bij de zijanten vast.
- Voor elk reagens worden veiligheidsinformatiebladen (VIB) geleverd (zoals van toepassing) op [www.neumodx.com/client-resources](http://www.neumodx.com/client-resources).
- Een verticale balk in de tekstmarge wijst op wijzigingen in vergelijking met de vorige versie van de handleiding.
- Was uw handen grondig na het uitvoeren van de test.
- Pipetteer niet met de mond. Rook, drink of eet niet in ruimten waarin specimina of reagentia worden verwerkt.
- Behandel specimina altijd alsof ze infectieus zijn en volg procedures voor veilig werken in het laboratorium, zoals beschreven in OSHA Standard on Bloodborne Pathogens<sup>4</sup>, Biosafety Level 2<sup>5</sup> of andere praktijken inzake bioveiligheid<sup>6,7</sup> die moeten worden toegepast voor materialen die infectieuze agentia bevatten of zouden kunnen bevatten.
- Voer ongebruikte reagentia en afval af in overeenstemming met nationale, federale, provinciale en lokale regelgeving.
- De resultaten van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay moeten worden geïnterpreteerd samen met andere klinische en laboratoriumbevindingen.
- Zoals bij andere tests sluiten negatieve resultaten een BKV-infectie niet uit.

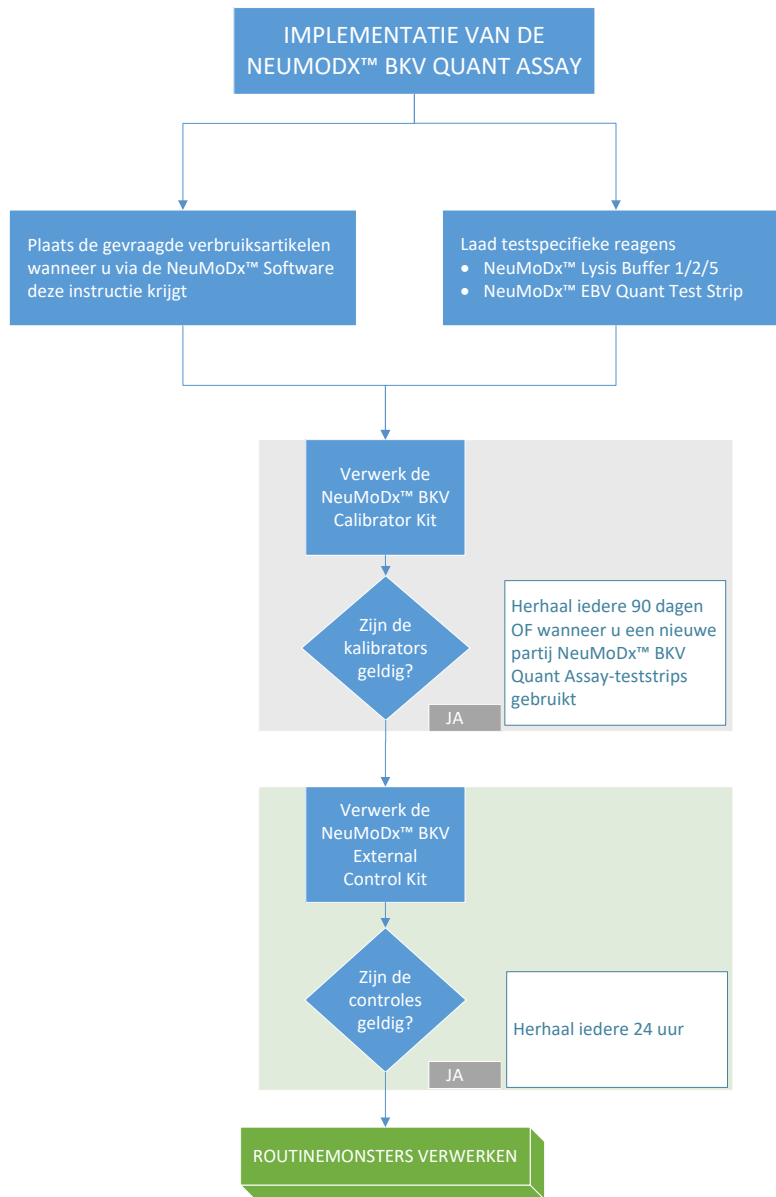
### OPSLAG, HANTERING EN STABILITEIT VAN HET PRODUCT

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips blijven in de primaire verpakking bij een temperatuur van 15 tot 30 °C tot de op het productlabel vermelde uiterste gebruiksdatum stabiel.
- Een NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip die in het NeuMoDx™ System is geplaatst, is 32 dagen stabiel; de software van het NeuMoDx™ System geeft een melding wanneer gebruikte teststrips langer dan 32 dagen in het NeuMoDx™ System zijn geplaatst en geeft aan dat er nieuwe NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips in het NeuMoDx System moeten worden geplaatst (de strips moeten uit de zak worden gehaald). Haal de aluminiumfolie niet van de strip tijdens het laden van het NeuMoDx System.
- De NeuMoDx™-kalibrators en -controles zijn niet-infectieus, maar moeten na gebruik worden weggegooid in de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval, omdat ze na verwerking in het systeem doelmateriaal bevatten waardoor er besmetting kan plaatsvinden als ze niet correct worden behandeld.

**AFNAME, TRANSPORT EN OPSLAG VAN SPECIMENS**

1. Hanteer alle specimens alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.
2. Vries geen volbloed- of plasma/serum-specimens in die in primaire buisjes worden bewaard.
3. Voor het bereiden van plasmaspecimens moet volbloed worden afgenomen in steriele buisjes met EDTA als antistollingsmiddel. Serumspecimens moet in serumscheidingsbuisjes worden bereid. Urinemonsters moeten worden afgenomen in steriele buisjes of bekens. Volg de instructies van de fabrikant van de buisjes voor specimenafname.
4. Volbloed dat is afgenomen met de bovengenoemde hulpmiddelen kan maximaal 24 uur worden bewaard en/of getransporteerd bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C voorafgaand aan het bereiden van het plasma/serum. Monsters moeten worden bereid conform de instructies van de fabrikant.
5. Opslag bij omgevingstemperatuur van verse, onverwerkte urine moet tot een minimum beperkt worden, aangezien de lage pH en het hoge ureumgehalte het DNA snel denatureren, vooral vanaf 25 °C.
6. Bereide plasma/serum- en urinespecimens kunnen voorafgaand aan verwerking gedurende maximaal 24 uur in het NeuMoDx<sup>™</sup> System worden bewaard. Als bijkomende opslagtijd vereist is, wordt aanbevolen dat de specimens worden gekoeld of bevroren als secundaire aliquots.
7. Bewaar bereide plasma/serum- of urinespecimens voorafgaand aan het testen maximaal 8 dagen bij 2 tot 8 °C en maximaal 24 uur bij kamertemperatuur.
8. Bereide plasmaspecimens kunnen voorafgaand aan verwerking maximaal 8 weken worden bewaard bij een temperatuur van < -20 °C; bereide serumspecimens kunnen maximaal 2 weken worden bewaard bij deze temperatuur. Zowel plasma- als serummonsters dienen niet aan meer dan 2 cycli van invriezen/ontdooien te worden onderworpen voorafgaand aan gebruik:
  - a. Als de monsters bevroren zijn, laat u ze bij kamertemperatuur (15 °C - 30 °C) volledig ontdooien; vortex om een gelijkmatig verdeeld monster te verkrijgen.
  - b. Zodra de bevroren monsters ontdooid zijn, dienen de tests binnen 24 uur te worden uitgevoerd.
  - c. Het bevroren van plasma/serum in primaire afnamebuisjes wordt niet aanbevolen.
9. Na verwerking kunnen urinemonsters worden opgeslagen tussen 2 en 8 °C.
10. Als specimens worden verzonden, moeten ze worden verpakt en gelabeld conform de toepasselijke landelijke en/of internationale regelgeving.
11. Label de specimens duidelijk en geef aan dat de specimens moeten worden getest op BKV.
12. Ga verder naar *Testvoorbereiding* gedeelte.

Het volledige implementatieproces van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay is samengevat in *Afbeelding 1*.



**Afbeelding 1:** Workflow voor de toepassing van de NeuMoDx BKV Quant Assay

### GEBRUIKSHANDLEIDING

#### Testvoorbereiding

Voor plasma/serummonsters kan de NeuMoDx BKV Quant Assay rechtstreeks worden uitgevoerd met primaire bloedafnamebuisjes of met specimenaliquots in secundaire buisjes. De verwerking kan worden uitgevoerd met één van beide workflows voor verwerking van specimenvolumes: workflow specimenvolume 550 µl of workflow specimenvolume 100 µl. Urinemonsters kunnen uitsluitend worden verwerkt met de workflow voor specimenvolume van 550 µl.

1. Breng het barcodelabel voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx™ System. Het primaire bloedafnamebuisje kan worden gelabeld en direct op de specimenbuisjesdrager voor 32 buisjes worden geplaatst, na centrifugatie volgens de richtlijnen van de fabrikant.
2. Als u het plasma/serum-specimen in het primaire afnamebuisje test, plaatst u het buisje met barcode in een specimenbuisjesdrager. Zorg er daarbij voor dat de dop is verwijderd alvorens het buisje op het NeuMoDx System te laden. De minimale volumes **boven** gel/buffy-laag worden hieronder gedefinieerd en er is aan voldaan indien specimens worden verzameld en verwerkt volgens de instructies van de fabrikant van de buisjes. De prestaties worden niet gegarandeerd voor verkeerd verzamelde specimens.

Bloedafname Type buisje	Minimaal vereist specimenvolume	
	Workflow 550 µl	Workflow 100 µl
SST – 3,5 ml	1550 µl	1150 µl
PPT/SST – 5,0 ml	1800 µl	1400 µl
PPT/SST – 8,5 ml	2500 µl	2150 µl
K <sub>2</sub> EDTA/Serum – 4,0 ml	1050 µl	650 µl
K <sub>2</sub> EDTA/Serum – 6,0 ml	1250 µl	850 µl
K <sub>2</sub> EDTA/Serum – 10,0 ml	1600 µl	1200 µl

3. Voor urinemonsters of plasma/serummonsters in een secundair buisje brengt u een aliquot van het specimen over naar een specimenbuisje dat voorzien is van een barcode en dat compatibel is met het NeuMoDx System (zie hieronder voor het juiste volume):

Specimenbuisjesdrager	Grootte buisje	Minimaal vereist specimenvolume	
		Workflow 550 µl	Workflow 100 µl (Alleen plasma/serum)
<b>32-Tube Specimen Tube Carrier</b> (Specimenbuisjesdrager voor 32 buisjes)	Diameter 11–14 mm met hoogte 60–120 mm	700 µl	350 µl
<b>24-Tube Specimen Tube Carrier</b> (Specimenbuisjesdrager voor 24 buisjes)	Diameter 14,5-18 mm met hoogte 60–120 mm	1100 µl	750 µl
<b>Low Volume Specimen Tube Carrier</b> (Specimenbuisjesdrager met laag volume)	Microcentrifugebuisje van 1,5 ml met conische bodem	650 µl	250 µl

#### Bediening van het NeuMoDx System

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van de NeuMoDx™ 288 en 96 Molecular Systems (p/n 40600108 en 40600317) voor gedetailleerde instructies.

1. Laad de testopdracht op het NeuMoDx System aan de hand van het gewenste type specimen en buisje:
  - specimenvolume van 550 µl wordt getest door het specimentype te definiëren als '**Plasma**', '**Serum**' of '**Urine**'
  - specimenvolume van 100 µl wordt getest door het specimentype te definiëren als '**Plasma2**' of '**Serum2**'
  - Indien niet gedefinieerd in de testopdracht, wordt het specimentype **Plasma** in een **Secondary Tube** (Secundair buisje) als standaard gebruikt.
2. Snijd de aluminium zakken van NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip open aan de ingekeepte kant.
3. Haal de strips onmiddellijk voor gebruik uit de zakken.
4. Voordat u de zakken gebruikt, moet u altijd controleren of ze goed afgedicht zijn en het zakje met droogmiddel er nog in zit. Gebruik uitsluitend verpakkingen die niet beschadigd zijn.
5. Verwijder de aluminium zakken en hun inhoud indien het zakje met droogmiddel van oranje verandert in groen.

6. Plaats NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip(s) in een of meer NeuMoDx™ System-teststripdrager(s) en plaats deze met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx™ System.
7. 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.
8. 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 de NeuMoDx™ System-software.
9. Verwerk de Calibrators (REF 800600) en/of External Controls (REF 900601) 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*.
10. Plaats de specimen-/kalibrator-/controlebuisjes in een standaarddrager voor 32 buisjes en controleer of alle dopjes van de buisjes zijn verwijderd.
11. Plaats de specimenbuisjesdrager in een open positie in het autoladerrek en laad de drager 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

- De NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip kan alleen in NeuMoDx™ Systems worden gebruikt.
- De prestaties van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip zijn vastgesteld voor plasma- en serumspecimens die zijn bereid met volbloed, afgenomen met EDTA als antistollingsmiddel, en voor urinespecimens; het gebruik van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip met andere soorten klinische specimens is niet beoordeeld en de prestatiekenmerken van deze test voor andere soorten monsters zijn onbekend.
- Een kleine toename van de detectielimiet en ondergrens voor kwantificering van de NeuMoDx BKV Quant Assay werd waargenomen bij gebruik van de workflow voor specimenvolume van 100 µl.
- De NeuMoDx BKV Quant Assay mag niet worden gebruikt met monsters van gehepariniseerde mensen.
- Aangezien detectie van BKV afhankelijk is van het aantal organismen dat in het monster aanwezig is, zijn betrouwbare resultaten afhankelijk van de manier waarop specimens worden afgenomen, behandeld en bewaard.
- De kalibrators en externe controles moeten worden verwerkt zoals aanbevolen in de bijsluiters en wanneer de software van het NeuMoDx™ System dit aangeeft, voordat er routinematige klinische monsters worden verwerkt.
- 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 foutnegatieve resultaten zich voordoen wanneer het aantal virusdeeltjes in het monster lager is dan de detectielimiet van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- Het NeuMoDx™ System mag alleen worden bediend door medewerkers die zijn getraind in het gebruik van het NeuMoDx™ System.
- Als zowel het BKV-doelmateriaal als het SPC1-doelmateriaal niet amplificeert, wordt er een ongeldig resultaat (Indeterminate (Onbepaald), No Result (Geen resultaat) of Unresolved (Onbekend)) gerapporteerd en moet de test worden herhaald.
- Als het resultaat van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay Positief (Positief) is, maar de kwantificeringswaarde niet binnen het kwantificeringsbereik ligt, geeft het NeuMoDx™ System aan of de gedetecteerde BKV-waarde lager dan de ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation; LLoQ) of hoger dan de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation; ULoQ) was.
- Als de gedetecteerde BKV-waarde lager dan de LLoQ was, kan de NeuMoDx™ BKV Quant Assay (indien gewenst) worden herhaald met een ander aliquot deel van het specimen.
- Als de gedetecteerde BKV-waarde hoger dan de ULoQ was, kan de NeuMoDx™ BKV Quant Assay worden herhaald met een verdund aliquot deel van het oorspronkelijke specimen. Een verdunding van 1:1000 in BKV-negatief plasma of Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA, VS) wordt aanbevolen. De concentratie van het oorspronkelijke specimen kan als volgt worden berekend:  
$$\text{Oorspronkelijke specimenconcentratie} = \log_{10}(\text{verduunningsfactor}) + \text{gerapporteerde concentratie van het verdunde monster}.$$
- De incidentele aanwezigheid van PCR-remmers in plasma/serum of urine kan resulteren in een kwantificeringsfout in het systeem. Als dat gebeurt, is het aanbevolen de test te herhalen met hetzelfde specimen verdund in Basematrix in een verhouding van 1:10 of 1:100.
- Een positief resultaat is niet altijd een indicatie voor de aanwezigheid van levende organismen. Een positief resultaat doet echter wel het vermoeden rijzen dat er BKV-DNA aanwezig is.
- Verwijdering of mutaties in de geconserveerde gebieden waar de NeuMoDx™ BKV Quant Assay zich op richt, kunnen gevolgen hebben voor de detectie of kunnen tot een foutief resultaat leiden bij gebruik van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- De resultaten van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay 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.
- Gebruik de goede laboratoriumpraktijken, zoals het aantrekken van nieuwe handschoenen bij het hanteren van specimens 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™ BKV Quant Assay worden automatisch gegenereerd door de software van het NeuMoDx™ System, dat gebruikmaakt van het beslissingsalgoritme en de resultaatverwerkingsparameters die in het NeuMoDx™ BKV-assaydefinitiebestand (BKV Assay Definition File, BKV ADF) worden vermeld. Een NeuMoDx™ BKV Quant Assay-resultaat kan worden gerapporteerd als Negative (Negatief), Positive (Positief) met een gerapporteerde BKV-concentratie, Positive (Positief) boven ULoQ, Positive (Positief) onder LLoQ, Indeterminate (Onbepaald; IND), Unresolved (Onbekend; UNR) of No Result (Geen resultaat; NR), afhankelijk van de amplificatiestatus van het doelmateriaal en de monsterverwerkingscontrole. Resultaten worden gerapporteerd op basis van het beslissingsalgoritme, volgens het overzicht in de onderstaande *Tabel 1*.

**Tabel 1:** Overzicht van het beslissingsalgoritme van de NeuMoDx BKV Quant Assay

Resultaat	BKV	Monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control; SPC1)	Interpretatie van het resultaat
<b>Positive (Positief) met gerapporteerde concentratie</b>	Amplified (Geamplificeerd) $1,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 550 $\mu\text{l}$ )* $2,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 100 $\mu\text{l}$ )*	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	BKV-DNA gedetecteerd binnen kwantitatief bereik
<b>Positive (Positief), hoger dan bovengrens voor kwantificering [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]</b>	Amplified (Geamplificeerd) $[BKV] > 8,0 \log_{10} \text{ IE/ml}$	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	BKV-DNA gedetecteerd boven kwantitatief bereik
<b>Positive (Positief), lager dan ondergrens voor kwantificering [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]</b>	Amplified (Geamplificeerd) $[BKV] < 1,3 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 550 $\mu\text{l}$ )* $[BKV] < 2,3 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 100 $\mu\text{l}$ )*	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	BKV-DNA gedetecteerd onder kwantitatief bereik
<b>Negative (Negatief)</b>	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Amplified (Geamplificeerd)	BKV-DNA niet gedetecteerd
<b>Indeterminate (Onbepaald)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking voltooid)		Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw†
<b>No Result (Geen resultaat)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking afgebroken)		Verwerking van het monster werd afgebroken; test het monster opnieuw†
<b>Unresolved (Onbekend)</b>	Not amplified, No System Error Detected (Niet geamplificeerd, Geen systeemfout gedetecteerd)		Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw†

\*Workflow van 550  $\mu\text{l}$  wordt gebruikt met plasma/serum- en urinespecimens. Workflow van 100  $\mu\text{l}$  wordt alleen gebruikt met plasma/serum-specimens.

†Het NeuMoDx System is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) die de eindgebruiker kan gebruiken om ervoor te zorgen dat een IND (Onbepaald)/NR (Onbekend)/UNR (Geen resultaat) resultaat automatisch opnieuw wordt verwerkt om vertragingen in de resultaatrapportage zoveel mogelijk te beperken.

### Testberekening

1. Voor monsters binnen het kwantificeringsbereik van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay wordt de concentratie BKV-DNA in de monsters berekend met behulp van de opgeslagen standaardcurve in combinatie met de kalibratiecoëfficiënt en het specimenvolume.
  - a. Een kalibratiecoëfficiënt wordt berekend op basis van de resultaten van de verwerkte NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit die is verwerkt om de validiteit van de standaardcurve vast te stellen voor een specifieke partij NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips met een specifiek NeuMoDx™ System.
  - b. De kalibratiecoëfficiënt wordt mee opgenomen in de uiteindelijke bepaling van de concentratie BKV-DNA.
  - c. De NeuMoDx Software houdt rekening met het specimeninvolumen bij bepaling van de concentratie van BKV-DNA per ml specimen.
2. De resultaten van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay worden gerapporteerd in  $\log_{10} \text{ IE/ml}$ .
3. De resulterende kwantificering van de onbekende monsters is herleidbaar naar de 1<sup>e</sup> internationale norm van het WHO voor BK-virus (BKV) (14/212)<sup>9</sup>.



### Testkalibratie

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

### Kalibrators

1. NeuMoDx™ BKV Calibrators worden geleverd in een kit (REF 800600) en bestaan uit een gedroogde pellet van synthetisch BKV-DNA.
2. Bij elke nieuwe partij NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips, wanneer een nieuw BKV-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 BKV-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. Indien een nieuwe set van BKV-kalibrators verwerkt moet worden, leest u alle instructies in de bijsluiter van de NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit voordat u de test uitvoert.
5. De kalibratievaliditeit wordt als volgt vastgesteld:
  - a) Er moet een set van twee kalibrators, een hoge en een lage, worden verwerkt om de validiteit vast te stellen.
  - b) 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 doelwit voor de lage kalibrator is  $3 \log_{10}$  IE/ml en het nominale doelwit voor de hoge kalibrator is  $5 \log_{10}$  IE/ml.
  - c) De kalibratiecoëfficiënt wordt berekend om de verwachte variatie tussen teststrippartijen te verklaren; deze kalibratiecoëfficiënt wordt gebruikt bij het bepalen van de uiteindelijke BKV-concentratie.
6. Als één of beide kalibrators ongeldig worden verklaard, herhaalt u de verwerking van de ongeldige kalibrator(s) 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 niet vereist is dat de gebruiker beide kalibrators opnieuw test.

### 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. BKV External Controls worden door NeuMoDx Molecular, Inc. geleverd in de BKV External Control Kit (REF900601). De positieve controles bevatten een gedroogde pellet van synthetisch BKV-DNA.
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.
3. Indien externe controles vereist zijn, bereidt u de positieve en negatieve controles zoals beschreven in de bijsluiter van de NeuMoDx BKV External Control Kit voordat u de test uitvoert.
4. Plaats de flacons met een positieve en negatieve controle in het NeuMoDx™ System met behulp van het aanraakscherm en een specimenbuisjesdrager die op het autoladerrek is geplaatst. Het NeuMoDx™ System herkent de barcode en begint met de verwerking van de specimenbuisjes, tenzij voor de test benodigde reagentia of verbruiksartikelen niet aanwezig zijn.
5. De validiteit van externe controles wordt door het NeuMoDx™ System beoordeeld op basis van het verwachte resultaat. De positieve controle dient een BKV-positief resultaat op te leveren en de negatieve controle een BKV-negatief resultaat.
6. In geval van afwijkende resultaten bij externe controles doet u het volgende:
  - a) Een Positive (Positief) testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een negatieve-controlemonster duidt op besmetting van het specimen.
  - b) Een Negative (Negatief) testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een positieve-controlemonster kan erop wijzen dat er een probleem is met reagentia of het instrument.
  - c) In beide bovengenoemde gevallen of bij een Indeterminate (Onbepaald; IND) resultaat of No Result (Geen resultaat; NR) herhaalt u de mislukte NeuMoDx™ BKV External Control(s) met een nieuwe flacon van de controle(s) die de validiteitstest niet heeft (hebben) doorstaan.
  - d) Als de positieve NeuMoDx™ BKV External Control een Negative (Negatief) resultaat blijft opleveren, neemt u contact op met de klantenservice van NeuMoDx™.
  - e) Als de negatieve NeuMoDx™ BKV External Control een Positive (Positief) resultaat blijft opleveren, probeert u alle mogelijke besmettingsbronnen te verwijderden. U moet onder meer ALLE reagentia vervangen, voordat u contact opneemt met de klantenservice van NeuMoDx™.

### (Interne) monsterverwerkingscontroles

In de NeuMoDx™ Extraction Plate is een exogene monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control; SPC1) opgenomen, die met elk monster het gehele proces van nucleïnezuurextractie en realtime PCR-amplificatie ondergaat. Er zijn ook SPC1-specifieke primers en een SPC1-specifieke probe opgenomen in elke NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, waardoor de aanwezigheid van SPC1 en het doel-BKV-DNA (indien aanwezig) kan worden gedetecteerd via multiplex realtime PCR. Detectie van SPC1-amplificatie zorgt ervoor dat de software van het NeuMoDx™ System de doeltreffendheid van de DNA-extractie en PCR-amplificatieprocessen kan monitoren.

### Ongeldige resultaten

Als een NeuMoDx™ BKV Quant Assay die met het NeuMoDx™ System is uitgevoerd geen geldig resultaat oplevert, wordt dit gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald; IND), No Result (Geen resultaat; NR) of Unresolved (Onbekend; UNR), afhankelijk van de fout die is opgetreden.

Een IND-resultaat wordt gerapporteerd als er een fout wordt gedetecteerd in het NeuMoDx™ System tijdens de verwerking van het monster. Wanneer een IND-resultaat wordt gerapporteerd, wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als UNR (Onbekend) als er geen geldige amplificatie van BKV-DNA of de SPC1 is gedetecteerd. Dit wijst mogelijk op een reagensdefect of de aanwezigheid van remmers. Als er een UNR-resultaat wordt gerapporteerd, kunt u als eerste proberen om de test opnieuw uit te voeren. Als deze test ook een ongeldig resultaat oplevert, kan een verdund specimen worden gebruikt om de effecten van mogelijke monstervermindering te verminderen.

Indien een NeuMoDx BKV Quant Assay uitgevoerd in het NeuMoDx System geen geldig resultaat produceert en de monsterverwerking voortijdig wordt afgebroken, wordt dit gemeld als No Result (Geen resultaat; NR). Wanneer een NR wordt gerapporteerd, wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

## PRESTATIEKENMERKEN

### Analytische gevoeligheid – Detectielimiet<sup>12</sup>

De analytische gevoeligheid van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay werd gekenmerkt door het testen van een verdunningsreeks van het EDX BKV Verification Panel (Exact Diagnostics), gekalibreerd conform de 1<sup>e</sup> internationale norm van het WHO voor het BK-virus (BKV) (14/212)<sup>9</sup>, in BKV-negatieve plasma/serum- en urinemonsters, om de detectielimiet (Limit of Detection; LoD) in de NeuMoDx Systems te bepalen. Voor plasma/serum (550 µl) en urine werd de LoD bepaald als het dichtste doelniveau, experimenteel bepaald, boven de concentratie vastgesteld via een probitanalyse met een betrouwbaarheidsinterval (BI) van 95%. Voor plasma/serum (100 µl) werd de concentratie van 200 IE/ml uit één monster onderzocht aan de hand van een trefpercentage-analyse en gevalideerd voor LoD indien het detectiepercentage boven 95% lag. De studie werd uitgevoerd over een periode van 3 dagen, met meerdere systemen en met meerdere partijen NeuMoDx™-reagentia. Elk systeem verwerkte 42 replica's van elke verdunningsconcentratie (positieve monsters) en 8 replica's voor negatieve monsters per dag. De detectiepercentages zijn weergegeven in Tabel 2 en 3.

**Tabel 2:** Positieve detectiepercentages voor LoD-bepaling van de NeuMoDx BKV Quant Assay (plasma/serum 550 µl en urine)

Doelwitconcentratie [IE/ml]	Doelwitconcentratie [log <sub>10</sub> IE/ml]	Workflow PLASMA/SERUM 550 µl			URINE		
		Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage	Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage
50	1,70	41	41	100%	41	41	100%
20	1,30	42	42	100%	40	39	98%
10	1,00	41	35	85%	41	31	76%
5	0,30	41	16	39%	41	12	29%
NEG	0,00	20	0	0%	24	0	0%

**Tabel 3:** Positieve detectiepercentages voor LoD-bepaling van de NeuMoDx BKV Quant Assay (plasma/serum 100 µl)

Doelwitconcentratie [IE/ml]	Doelwitconcentratie [log <sub>10</sub> IE/ml]	Workflow PLASMA/SERUM 100 µl		
		Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage
200	2,30	89	88	99%

De LoD van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay in plasma/serum (workflow van 550 µl) bedroeg 20 IE/ml (1,3 log<sub>10</sub> IE/ml) met 95% betrouwbaarheidsinterval (BI) van 11,03; in urine bedroeg de LoD 20,0 IE/ml (1,3 log<sub>10</sub> IE/ml) met 95% betrouwbaarheidsinterval (BI) van 13,09; in plasma/serum (workflow van 100 µl) bedroeg de LoD 200 IE/ml (2,3 log<sub>10</sub> IE/ml).

### Analytische gevoeligheid – Ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation; LLoQ) en bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation; ULoQ)<sup>12</sup>

De ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation; LLoQ) en bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation; ULoQ) zijn vastgesteld als de laagste en hoogste doelconcentratie waarbij er een detectie is van > 95% EN een TAE van ≤ 1,0. Om de LLoQ en ULoQ te bepalen, werd de totale analytische fout (Total Analytical Error; TAE) berekend voor elke BKV-doelconcentratie waarbij er een detectie van > 95% werd gerapporteerd. TAE wordt als volgt gedefinieerd:

$$TAE = \text{vertekening} + 2 * SD \text{ [Westgard-statistiek]}$$

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 plasma/serum- of urinespecimens van BKV die bij het LLoQ/UloQ-onderzoek werden gebruikt, zijn weergegeven in *Tabel 4 en 5*. Op basis van deze gegevensset en de eerder bepaalde LoD werden de LLoQ en UloQ bepaald op 20 IE/ml ( $1,3 \log_{10}$  IE/ml) en  $7,58 \times 10^7$  IE/ml (hier afgerond tot  $8 \log_{10}$  IE/ml) respectievelijk voor plasma/serum 550  $\mu$ l en urine, en 200 IE/ml ( $2,3 \log_{10}$  IE/ml) voor plasma/serum 100  $\mu$ l.

**Tabel 4:** ULoQ en LLoQ van NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, met vertekening en TAE (plasma/serum 550  $\mu$ l en urine)

Doelconc. [IE/ml]	Doelconc. [ $\log_{10}$ IE/ml]	Plasma/serum 550 $\mu$ l					Urine				
		Gemiddelde conc. [ $\log_{10}$ IE/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	TAE	Gemiddelde conc. [ $\log_{10}$ IE/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	TAE
$7,58 \times 10^7$	8	8	100	0,09	0,05	0,23	8	100	0,09	0,10	0,29
50	1,70	1,80	100	0,18	0,10	0,46	1,84	100	0,22	0,14	0,59
20	1,30	1,56	100	0,25	0,26	0,76	1,66	100	0,29	0,36	0,93
10	1,00	1,46	85	0,27	0,46	1,01	1,41	85%	0,41	0,41	1,22
5	0,30	1,27	39	0,48	0,97	1,92	1,31	38%	0,52	1,01	2,04

**Tabel 5:** ULoQ en LLoQ van NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, met vertekening en TAE (plasma/serum 100  $\mu$ l)

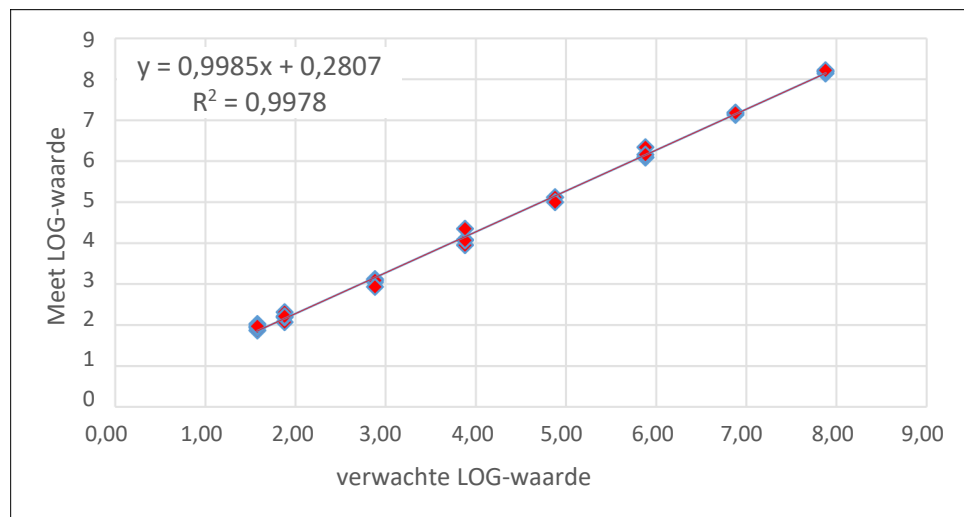
Doelconc. [IE/ml]	Doelconc. [ $\log_{10}$ IE/ml]	Plasma/serum 100 $\mu$ l				
		Gemiddelde conc. [ $\log_{10}$ IE/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	TAE
$7,58 \times 10^7$	8	8	100	0,09	0,07	0,25
200	2,30	2,30	99	0,39	0,003	0,78

Op basis van het resultaat van deze studies werden de LoD en LLoQ van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay bepaald op 20 IE/ml ( $1,3 \log_{10}$  IE/ml) voor plasma/serum en urine met de workflow van 550  $\mu$ l, en 200 IE/ml ( $2,30 \log_{10}$  IE/ml) voor plasma/serum wanneer de workflow van 100  $\mu$ l wordt gebruikt. De ULoQ voor alle specimentypen is  $7,58 \times 10^7$  IE/ml ( $8 \log_{10}$  IE/ml).

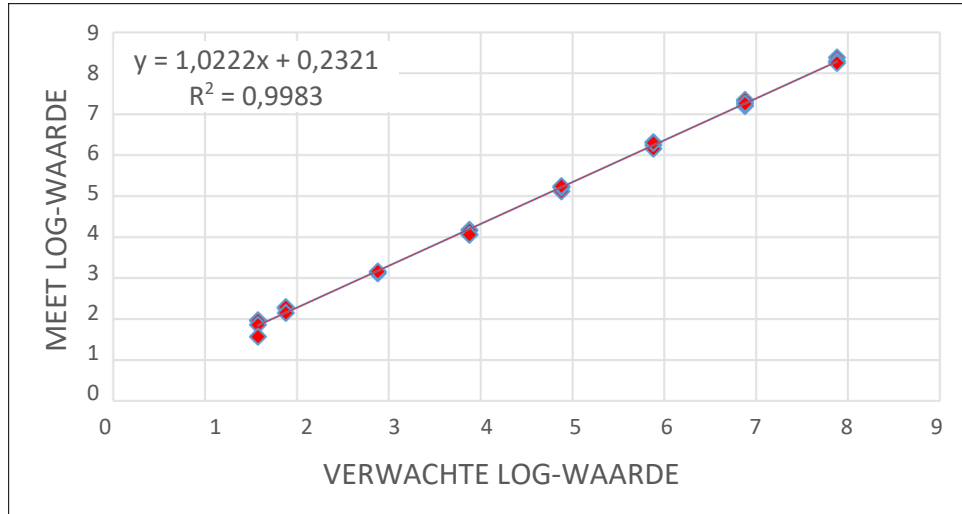
### Lineariteit<sup>13</sup>

De lineariteit van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip werd vastgesteld in plasma/serum en urine door een verdunningsreeks te bereiden met BKV Synthetic Plasmid (Integrated DNA Technologies) met een vastgestelde herleidbaarheid naar de 1<sup>e</sup> internationale norm van het WHO voor het BK-virus (BKV) (14/212)<sup>9</sup>. 11 seriële verdunningen van BKV Synthetic Plasmid, bereid in BKV-negatieve BaseMatrix 53 of gegroepede BKV-negatieve menselijke urine, werden aangemaakt met een concentratiebereik van  $7,88 - 1,58 \log_{10}$  IE/ml voor plasma/serum 550  $\mu$ l en urine, en een concentratiebereik van  $6,88 - 2,88 \log_{10}$  IE/ml voor plasma/serum 100  $\mu$ l.

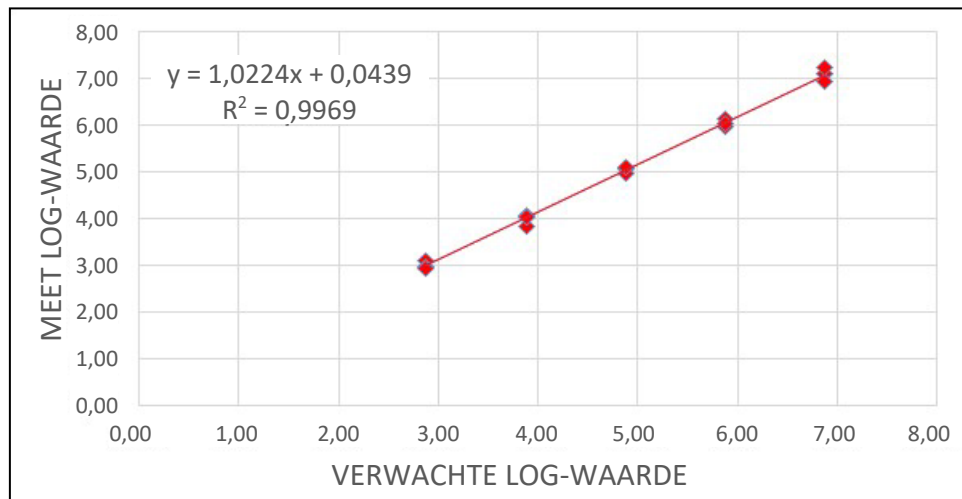
De vergelijking tussen de BKV-assayconcentraties gerapporteerd door het NeuMoDx™ System en de verwachte waarden is weergegeven in afbeelding *Afbeelding 2, 3 en 4*.



**Afbeelding 2:** Lineariteit van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay voor plasma/serum (workflow van 550  $\mu$ l)



**Afbeelding 3:** Lineariteit van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip voor urinespecimens



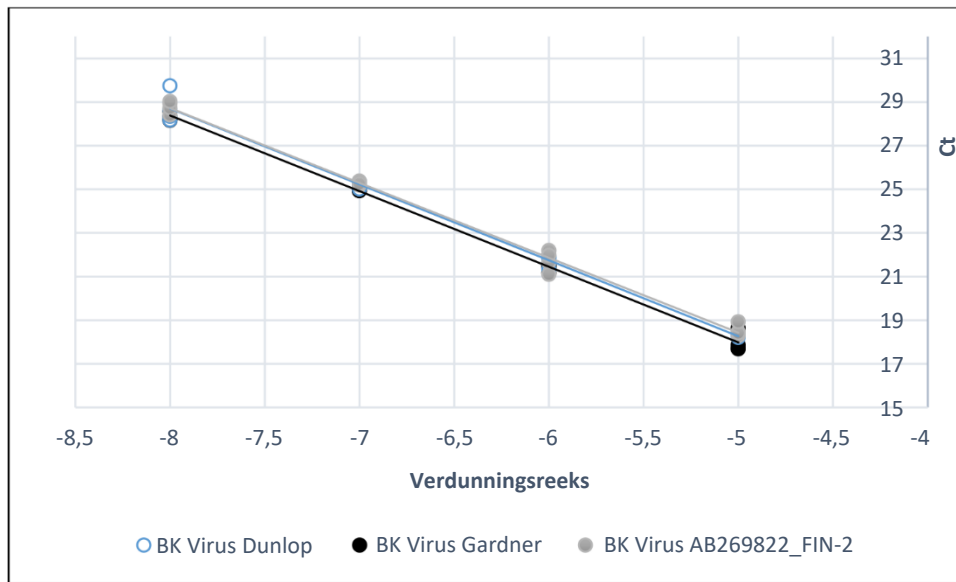
**Afbeelding 4:** Lineariteit van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip voor plasma/serum (workflow van 100 µl)

#### Lineariteit bij verschillende genotypen<sup>16</sup>

De lineariteit van de NeuMoDx BKV Quant Assay over drie BKV-genotypen (BK Virus Dunlop, BK Virus Gardner, BK Virus AB269822\_FIN-2) werd gekenmerkt door vier verschillende concentraties van elk genotype van BKV bereid in BKV-negatieve BaseMatrix 53 te testen. Het genotype BK Virus S72390 heeft geen polymorfismen in het gendoelgebied gedekt door de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip. Het onderzoek werd uitgevoerd door 4 replica's van elk van de 3 genotypen bij 6 concentraties te testen (10-voudige verdunningsreeks). De lineariteit over drie BKV-genotypen is weergegeven in *Tabel 6* en *Afbeelding 5*.

**Tabel 6:** Lineariteit van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip bij verschillende genotypen

Genotype	Lineariteitsvergelijking y = NeuMoDx BKV Assay Ct x = Verdunningsreeks	R <sup>2</sup>
BK Virus Dunlop	y = -3,4808x + 0,8595	0,9926
BK Virus Gardner	y = -3,4682x + 0,6395	0,9959
BK Virus AB269822_FIN-2	y = -3,432x + 1,2683	0,9947



**Afbeelding 5:** Lineariteit van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip bij verschillende genotypen

### Analytische specificiteit – Kruisreactiviteit <sup>10,11</sup>

De analytische specificiteit werd aangetoond door 22 organismen die vaak aangetroffen worden in plasma/serum- of urinespecimens, en soorten die fylogenetisch vergelijkbaar zijn met BKV te screenen op kruisreactiviteit. De organismen werden onderverdeeld in groepen van 5-6 organismen en getest bij een hoge concentratie. De geteste organismen staan in *Tabel 7*. Bij geen enkel getest organisme werd kruisreactiviteit waargenomen, waardoor bevestigd is dat de NeuMoDx™ BKV Quant Assay een analytische specificiteit van 100% heeft.

**Tabel 7:** Gebruikte pathogenen voor het aantonen van analytische specificiteit

Niet-doelorganismen					
HTLV-1/2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Hepatitis B-virus	Adenovirus type 5	Epstein-Barr-virus	Varicella-zostervirus	Hepatitis C-virus
Herpes-simplexvirus type 1	Herpes-simplexvirus type 2	Humaan herpesvirus type 6	Humaan herpesvirus type 7	Humaan herpesvirus type 8	Humaan immunodeficiëntievirus-1
Humaan immunodeficiëntievirus-2	JC-virus	SV40	<i>Cytomegalovirus</i>		

### Analytische specificiteit – Interfererende stoffen, commensale organismen <sup>10,11</sup>

De NeuMoDx™ BKV Quant Assay 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 7*. BKV-negatief plasma werd verrijkt met 5-6 groepen organismen. Daarnaast werd er BKV-doelmateriaal aan toegevoegd met een concentratie van  $4 \log_{10}$  IE/ml. Er werd geen significante interferentie waargenomen in de aanwezigheid van deze commensale 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 <sup>10,11</sup>

De NeuMoDx™ BKV Quant Assay werd beoordeeld in de aanwezigheid van typische exogene en endogene interfererende stoffen die in klinische plasma/serum- of urinespecimens van BKV kunnen voorkomen. Dergelijke stoffen bevatten abnormaal hoge gehalten aan bloed- of urinebestanddelen en veelvoorkomende antivirale geneesmiddelen, zoals geclassificeerd in *Tabel 8*. Iedere stof werd toegevoegd aan gescreend BKV-negatief BaseMatrix 53 of menselijke urine die was verrijkt met  $3 \log_{10}$  IE/ml BKV. Vervolgens werden de monsters geanalyseerd op interferentie. De gemiddelde concentratie en vertekening van alle geteste stoffen in vergelijking met de controlemonsters die met dezelfde BKV-concentratie waren verrijkt, zijn weergegeven in *Tabel 9*. Geen van de exogene en endogene stoffen had invloed op de specificiteit van de NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

**Tabel 8:** Interferentietests - Exogene stoffen (geneesmiddelclassificaties)

Pool	Naam van het geneesmiddel	Classificatie
Pool 1	Valganciclovir	ANTIVIRAAL MIDDEL
	Prednison	IMMUNOSUPPRESSIEF MIDDEL
	Cidofovir	ANTIVIRAAL MIDDEL
	Cefotaxim	ANTIBIOTICUM
	Mycofenolaatmofetil	IMMUNOSUPPRESSIEF MIDDEL
Pool 2	Vancomycine	ANTIBIOTICUM
	Tacrolimus	IMMUNOSUPPRESSIEF MIDDEL
	Famotidine	HISTAMINEANTAGONIST
	Valacyclovir	ANTIVIRAAL MIDDEL
	Leflunomide	IMMUNOSUPPRESSIEF MIDDEL

**Tabel 9:** Interferentietests - Exogene en endogene stoffen

Endoegen (plasma/serum)	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log <sub>10</sub> IE/ml	log <sub>10</sub> IE/ml
Triglyceriden 500 mg/dl	3,09	0,16
Geconjugeerde bilirubine (0,25 g/l)	3,09	0,16
Ongeconjugeerde bilirubine (0,25 g/l)	3,31	-0,06
Albumine (58,7 g/l)	3,12	0,13
Hemoglobine (2,9 g/l)	3,02	0,23
Endoegen (urine)	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log <sub>10</sub> IE/ml	log <sub>10</sub> IE/ml
Urobilirubine (> 2 mg/dl)	3,74	-0,09
Glucose (1000 mg/dl)	4,00	0,04
Urine pH 4	3,75	0,29
Urine pH 10	3,77	0,27
Leukocyten (1E5 cellen/ml)	3,68	-0,06
Bloed 7%	3,42	-0,32
Proteïne (albumine > 100 mg/dl)	3,96	0,08
Talkpoeder	3,92	0,12
Exoegen (geneesmiddelen)	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log <sub>10</sub> IE/ml	log <sub>10</sub> IE/ml
Pool 1: Valganciclovir, prednison, cidofovir, cefotaxim, mycofenolaatmofetil	4,04	-0,06
Pool 2: Vancomycine, tacrolimus, famotidine, valacyclovir, leflunomide	4,07	-0,09

### Herhaalbaarheid en precisie binnen het laboratorium<sup>14</sup>

De precisie van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip is bepaald door 2 replica's van een panel met 5 leden met BKV-specimens bereid met BKV-plasmide tweemaal per dag te testen, met behulp van één NeuMoDx™ 96 System over 20 dagen. De precisie binnen een run en binnen een dag werd gekenmerkt en de algehele standaardafwijking bedroeg ≤ 0,30 log<sub>10</sub> IE/ml. Er werd een hoge precisie aangetoond binnen verschillende dagen en runs, zoals weergegeven in *Tabel 10*. 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 10:** Precisie binnen laboratorium – NeuMoDx BKV Quant Assay met NeuMoDx Systems

Monster	SD binnen een dag (log <sub>10</sub> IE/ml)	SD tussen dagen (log <sub>10</sub> IE/ml)	SD binnen een run (log <sub>10</sub> IE/ml)	SD tussen runs (log <sub>10</sub> IE/ml)	SD binnen een laboratorium (log <sub>10</sub> IE/ml)
<b>Plasma/serum-specimen (invoer 550 µl)</b>					
RISppHIGH (hoog)	0,10	0,08	0,10	0,01	0,13
RISppMIDDLE (gemiddeld)	0,14	0,10	0,11	0,06	0,17
RISppMLOW (middellaag)	0,22	0,12	0,21	0,02	0,25
RISppLOW (laag)	0,21	0,03	0,18	0,10	0,21
RISppNEG (negatief)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Urinespecimens</b>					
RISpuHIGH (hoog)	0,16	0,10	0,11	0,12	0,20
RISpuMIDDLE (gemiddeld)	0,21	0,09	0,16	0,13	0,23
RISpuMLOW (middellaag)	0,14	0,12	0,13	0,02	0,18
RISpuLOW (laag)	0,29	0,05	0,25	0,13	0,30
RISpuNEG (negatief)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

#### Reproduceerbaarheid van partij tot partij <sup>14</sup>

De reproduceerbaarheid van partij tot partij van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip werd bepaald met drie verschillende partijen van NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips. Een panel met 5 leden van BKV bereid met BKV-plasmide werd gebruikt om de prestaties op één NeuMoDx™ 96 Molecular System over 3 afzonderlijke runs te evalueren. De variatie binnen en tussen partijen werd geanalyseerd en de resultaten worden uitgedrukt als absolute vertekening van de kwantificering tussen partijen, weergegeven in *Tabel 11*. De maximale algemene vertekening bedroeg 0,27 log<sub>10</sub> IE/ml. Equivalente prestaties werden aangetoond tussen verschillende partijen, aangezien de kwantificering van alle panelleden binnen de gespecificeerde tolerantie lag.

**Tabel 11:** Reproduceerbaarheid tussen partijen – NeuMoDx BKV Quant Assay

Monster	Absolute vertekening tussen partij 1 en 2 (log <sub>10</sub> IE/ml)	Absolute vertekening tussen partij 1 en 3 (log <sub>10</sub> IE/ml)	Absolute vertekening tussen partij 2 en 3 (log <sub>10</sub> IE/ml)
<b>Plasma/serum-specimen (550 µl)</b>			
7 log <sub>10</sub> IE/ml	0,05	0,10	0,05
4 log <sub>10</sub> IE/ml	0,02	0,03	0,05
3 log <sub>10</sub> IE/ml	0,20	0,05	0,15
2 log <sub>10</sub> IE/ml	0,02	0,24	0,26
0 log <sub>10</sub> IE/ml	0,00	0,00	0,00
<b>Urinespecimen (550 µl)</b>			
7 log <sub>10</sub> IE/ml	0,09	0,27	0,19
4 log <sub>10</sub> IE/ml	0,25	0,06	0,19
3 log <sub>10</sub> IE/ml	0,06	0,08	0,14
2 log <sub>10</sub> IE/ml	0,03	0,11	0,14
0 log <sub>10</sub> IE/ml	0,00	0,00	0,00

#### Reproduceerbaarheid van instrument tot instrument <sup>14</sup>

De reproduceerbaarheid van instrument tot instrument van de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip werd bepaald met drie verschillende systemen (twee NeuMoDx™ 288 Molecular System en een NeuMoDx™ 96 Molecular System). Ter beoordeling van de prestaties werd een panel met 5 leden van BKV gebruikt dat met BKV-plasmide was bereid. Het testen vond parallel op de systemen plaats gedurende 5 dagen. De variatie binnen een dag en tussen systemen werd gekeken en de algehele standaardafwijking bedroeg ≤ 0,30 log<sub>10</sub> IE/ml. Equivalente prestaties werden aangetoond tussen verschillende systemen, aangezien de SD van de kwantificering van alle panelleden binnen de gespecificeerde tolerantie lag (*Tabel 12*).

**Tabel 12:** Reproduceerbaarheid tussen instrumenten – NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

Monster	Herhaalbaarheid SD (log <sub>10</sub> IE/ml)	SD tussen dagen (log <sub>10</sub> IE/ml)	SD binnen een instrument (log <sub>10</sub> IE/ml)	SD tussen instrumenten (log <sub>10</sub> IE/ml)	Reproduceerbaarheid SD (log <sub>10</sub> IE/ml)
<b>Plasma/serum-specimen (invoer 550 µl)</b>					
RISppHIGH (hoog)	0,10	0,05	0,11	0,06	0,12
RISppMIDDLE (gemiddeld)	0,13	0,05	0,13	0,04	0,13
RISppMLOW (middellaag)	0,10	0,06	0,12	0,04	0,12
RISppLOW (laag)	0,12	0,05	0,13	0,04	0,13
RISppNEG (negatief)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Urinespecimens</b>					
RISpuHIGH (hoog)	0,11	0,05	0,12	0,06	0,14
RISpuMIDDLE (gemiddeld)	0,10	0,01	0,10	0,05	0,11
RISpuMLOW (middellaag)	0,09	0,04	0,10	0,07	0,12
RISpuLOW (laag)	0,15	0,02	0,15	0,05	0,16
RISpuNEG (negatief)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00



### LITERATUUR

1. Ambalathingal R, Francis R S *et al.* 2017. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin Microbiol Rev* 30(2):503-528.
2. Reploeg MD, Storch GA, Clifford DB. Bk virus: a clinical review. 2001 *Clin Infect Dis.* 15;33(2):191-202.
3. Navarro E, Serrano-Heras G *et al.* 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. *Clin Chim Acta.*15;439:231-50.
4. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens, <https://www.osha.gov/lawsregs/regulations/standardnumber/1910/1910.1030>
5. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington, DC: US Government Printing Office, December 2009.
6. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
7. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
8. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—First Edition CLSI Document MM13-A. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005
9. Sheila Govind, Jason Hockley, Clare Morris, Neil Almond, Collaborative Study Group. 2019. The Development and Establishment of the 1st WHO BKV International Standard for Nucleic Acid Based Techniques. *Biologicals*; 60:75-84.
10. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
11. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
12. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
13. CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline – First Edition. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2003.
14. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
15. CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

### HANDELSMERKEN















NeuMoDx™ is een handelsmerk van NeuMoDx Molecular, Inc.

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

STAT-NAT® is een gedeponeerd handelsmerk van SENTINEL CH. S.p.A.

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

### SYMBOLLEN

SYMBOOL	BETEKENIS
	Gebruik uitsluitend op voorschrift
	Fabrikant
	Distributeur
	<i>In-vitro</i> diagnostisch medisch hulpmiddel
	Catalogusnummer
	Batchcode
	Raadpleeg de gebruikshandleiding
	Voorzichtig, raadpleeg de meegeleverde documentatie
	Temperatuurbeperring
	Droog bewaren
	Niet hergebruiken
	Niet blootstellen aan licht
	Inhoud voldoende voor <n> tests
	Uiterste gebruiksdatum



SENTINEL CH. S.p.A.  
Via Robert Koch, 2  
20152 Milano, Italy

[www.sentineldiagnostics.com](http://www.sentineldiagnostics.com)



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

+1 888 301 NMDX (6639)  
[techsupport@neumodx.com](mailto:techsupport@neumodx.com)

Alartheidsmeldingen: [www.neumodx.com/contact-us](http://www.neumodx.com/contact-us)

Octrooi: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)