

REF 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip**R only**

VOORZICHTIG: 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 is een geautomatiseerde *in-vitro* nucleïdezuuramplificatietest voor de kwantificering van menselijk DNA van het Epstein-Barr-virus-DNA (EBV) in plasma. De NeuMoDx EBV Quant 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 plasma te isoleren, en van een realtime polymerasekettingreactie (Polymerase Chain Reaction, PCR) die zich richten op twee sterk geconserveerde regio's in het Epstein-Barr-virusgenoom.

De NeuMoDx EBV Quant Assay is bedoeld voor de *in-vitro* detectie en kwantificering van Epstein-Barr-virus-DNA uit verse en bevroren menselijke plasmaspecimens met het NeuMoDx 288 Molecular System en het NeuMoDx 96 Molecular System. De NeuMoDx EBV-assay is bedoeld voor het diagnosticeren en monitoren van EBV-infecties. De assay kan worden gebruikt voor het meten van het niveau EBV-DNA om de respons op antivirale 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 screeningstest die erop gericht is de aanwezigheid van EBV in bloed of bloedproducten op te sporen.

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 plasmaspecimen wordt een aliquot deel van 250 µl gemengd met NeuMoDx Lysis Buffer 5. 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 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 orgaantransplantaties. 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 tumvorming 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. De detectie van EBV-nucleïnezuren in bloed is echter niet voldoende voor de diagnose van EBV-gerelateerde PTLD's. Nucleïnezuurtesten (Nucleic Acid Testing, NAT) moeten alleen in combinatie met het klinische beeld en andere laboratoriummarkers van het ziekteverloop worden gebruikt om patiënten met een EBV-infectie klinisch te behandelen en monitoren. De huidige richtlijnen voor het beheren en behandelen van EBV-infecties bij immuungecompromitteerde personen zijn onduidelijk met betrekking tot *wanneer* er met de antivirale therapie wordt gestart. Volgens alle richtlijnen moet de viruslast continu worden gemonitord zodra met antivirale therapie is aangevangen, zodat de ernstige bijwerkingen van geneesmiddelen bij dergelijke populaties kunnen worden verlicht.^{3,4}

UITGANGSPUNT VAN DE PROCEDURE

Voor het uitvoeren van de analyse maakt de NeuMoDx EBV Quant Assay op het NeuMoDx System gebruik van de NeuMoDx EBV Quant Test Strip, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 5 en reagentia van NeuMoDx voor algemeen gebruik. De NeuMoDx EBV Quant Assay 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 opgevangen door paramagnetische deeltjes. De deeltjes met de gebonden nucleïnezuren 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 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 richt zich op twee sterk geconserveerde gebieden, BALF5 en BXFL1, in het EBV-genoom. Door twee doelgebieden te testen, wordt het risico op vals-negatieven in het geval van mutaties 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 oligonucleotideprobleculen 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.

Een TaqMan-probe gemerkt met een fluorofoor (490/521 nm) aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde voor het detecteren van EBV-DNA. Voor de detectie van SPC1 is de TaqMan-probe gemerkt met een andere fluorescerende kleurstof (535/556 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) 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 de grenzen voor kwantificering bevindt.

REAGENTIA/VERBRUIKSARTIKELEN

Meegeleverde materialen

REF	Inhoud	Tests per eenheid	Tests per verpakking
201500	NeuMoDx EBV Quant Test Strip <i>Gedroogde PCR-reagentia met EBV- en SPC1-specifieke TaqMan-probe en -primers.</i>	16	96

Aanvullende materialen die benodigd zijn, maar niet worden meegeleverd (afzonderlijk verkrijgbaar via NeuMoDx)

REF	Inhoud
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Gedroogde paramagnetische deeltjes, lytisch enzym en monsterverwerkingscontroles</i>
800500	NeuMoDx EBV Calibrators <i>Sets met EBV hoge en lage kalibrators voor eenmalig gebruik om de validiteit van de standaardcurve vast te stellen</i>
900501	NeuMoDx EBV External Controls <i>Sets met EBV-positieve en EBV-negatieve controles voor eenmalig gebruik om de dagelijkse validiteit van de NeuMoDx EBV Quant Assay vast te stellen</i>
400900	NeuMoDx Lysis Buffer 5
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]

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- De NeuMoDx EBV Quant Assay is uitsluitend geschikt voor *in-vitro* diagnostisch gebruik in combinatie met NeuMoDx Systems.
- Specimens moeten altijd worden behandeld alsof ze infectieus zijn en volgens procedures voor veilig werken in het laboratorium, zoals beschreven in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ en in CLSI-document M29-A4.⁶
- Positieve resultaten wijzen op de aanwezigheid van EBV-DNA.
- De NeuMoDx EBV Quant Assay mag uitsluitend worden uitgevoerd door personeel dat getraind is in het gebruik van het NeuMoDx System en de verwerking van infectieus materiaal.
- 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 800500]) voordat er testresultaten kunnen worden gegenereerd voor klinische monsters.
- De NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501] moeten om de 24 uur worden verwerkt door het testen met de NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Het minimale specimenvolume van secundaire aliquots is afhankelijk van de grootte van het buisje of de specimenbuisjesdrager volgens de onderstaande specificaties. 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 deoxyribonuclease (DNase) te allen tijde. U kunt het best steriele, DNase-vrije wegwerppipetten 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 EBV 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 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 of de NeuMoDx Extraction Plate, of de bovenkant van het buisje met NeuMoDx Lysis Buffer 5 niet aanraakt; pak de verbruiksartikelen en reagentia alleen bij de zijkanalen vast.
- Op aanvraag zijn veiligheidsinformatiebladen (VIB's) verkrijgbaar.
- 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.
- Voer ongebruikte reagentia en afval af in overeenstemming met nationale, federale, provinciale en lokale regelgeving.

OPSLAG, HANTERING EN STABILITEIT VAN HET PRODUCT

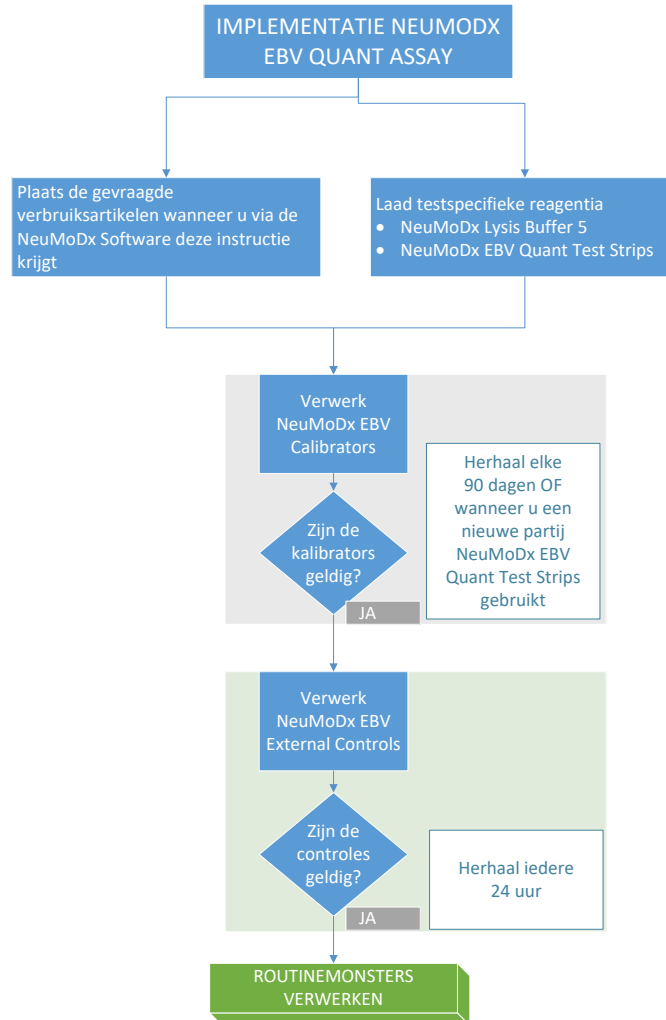
- De NeuMoDx EBV Quant Test Strips blijven in de primaire verpakking tot en met de vermelde uiterste gebruiksdatum op het productetiket stabiel bij 18 tot 23 °C.
- Gebruik verbruiksartikelen en reagentia niet als de uiterste gebruiksdatum is verstreken.
- Gebruik testproducten niet als de binnen- of buitenverpakking zichtbaar is beschadigd.
- Laad testproducten die eerder op een ander NeuMoDx System zijn geladen niet nogmaals.
- Wanneer de NeuMoDx EBV Quant Test Strip geladen is, kan de strip maximaal 14 dagen op het NeuMoDx System blijven. De resterende houdbaarheid van geladen teststrips wordt door de software bijgehouden en direct aan de gebruiker gemeld. Het systeem vraagt de gebruiker om teststrips die na de toegestane periode worden gebruikt te verwijderen.
- 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 van het doelwitnucleïnezuur te beperken.

AFNAME, TRANSPORT EN OPSLAG VAN SPECIMENS

Hanteer alle specimens alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.

- Vries geen volbloed of specimens in die in primaire buisjes worden bewaard.
- 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.
- 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.
- Bereide plasmaspecimens 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.
- Bewaar bereide plasmaspecimens voorafgaand aan het testen maximaal 7 dagen bij 2 tot 8 °C en maximaal 8 uur bij kamertemperatuur.
- Bereide plasmaspecimens kunnen voorafgaand aan verwerking 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.
 - Als de monsters bevroren zijn, laat u ze bij kamertemperatuur (15 °C-30 °C) volledig ontdooien; vortex om een gelijkmatig verdeeld monster te verkrijgen.
 - Zodra de bevroren monsters ontdooid zijn, dienen de tests binnen 8 uur te worden uitgevoerd.
- Als specimens worden verzonden, moeten ze worden verpakt en gelabeld conform de toepasselijke landelijke en/of internationale regelgeving.
- Label de specimens duidelijk en geef aan dat de specimens moeten worden getest op EBV.
- Ga verder met de instructies in de paragraaf Testvoorbereiding.

Het volledige implementatieproces van de NeuMoDx EBV Quant Assay is hieronder samengevat in *afbeelding 1*.



Afbeelding 1: Implementatieworkflow voor de NeuMoDx EBV Quant Assay

GEBRUIKSHANDLEIDING

Testvoorbereiding

1. Breng het barcodelabel voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System.
2. Breng een aliquot van plasma over naar een specimenbuisje met barcode en dat compatibel is met het NeuMoDx System (zie hieronder voor het juiste volume):
 - Specimenbuisjesdrager (32 buisjes): 11-14 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 400 ml
 - Specimenbuisjesdrager (24 buisjes): 14,5-18 mm diameter en 60-120 mm hoogte; minimaal vulvolume ≥ 850 ml

Bediening van het NeuMoDx System

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular Systems (o/n 40600108 en 40600317) voor gedetailleerde instructies

1. Plaats NeuMoDx EBV Quant Test Strip(s) in een of meer NeuMoDx System-teststripdrager(s) en plaats deze 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 de NeuMoDx Wash Reagent en NeuMoDx Release Reagent of leeg het primerafval of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval als u de instructie hiervoor krijgt op het scherm van het NeuMoDx System.

4. Verwerk de Calibrators [REF 800500] en/of External Controls [REF 900501] 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. Plaats de specimen-/kalibrator-/controlebuisjes in een standaarddrager voor 32 buisjes en controleer of alle dopjes van de specimenbuisjes zijn verwijderd.
6. Plaats de specimenbuisjesdrager in een open positie in het autoladerrek en laad de drager met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System. Hierdoor begint de verwerking van de geladen specimen voor de geïdentificeerde test(s).

BEPERKINGEN

- De NeuMoDx EBV Quant Test Strip kan alleen worden gebruikt met NeuMoDx Systems.
- De prestaties van de NeuMoDx EBV Quant Test Strip 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 met andere klinische specimensoorten is niet beoordeeld en de prestatiekenmerken van de test voor andere soorten specimen zijn onbekend.
- Aangezien detectie van EBV afhankelijk is van het aantal virussen dat in het monster aanwezig is, is de betrouwbaarheid van de resultaten afhankelijk van de manier waarop specimen 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 specimen, technische fouten of het door elkaar halen van specimenbuisjes. Bovendien kunnen zich vals-negatieve resultaten voordoen wanneer het aantal virusdeeltjes in het monster lager is dan de detectielimiet van de NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Het bedienen van het NeuMoDx System mag alleen worden uitgevoerd door medewerkers die zijn getraind in het gebruik van het NeuMoDx System.
- Als zowel het EBV-doelmateriaal als het SPC1-doelmateriaal niet amplificeert, wordt er een ongeldig resultaat (Indeterminate (Onbepaald) of Unresolved (Onbekend)) gerapporteerd en moet de test worden herhaald.
- Als het resultaat van de NeuMoDx EBV Quant Assay positief is, maar de kwantificeringswaarde niet binnen het kwantificeringsbereik ligt, geeft het NeuMoDx System aan of de gedetecteerde EBV-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 EBV-waarde lager dan de LLoQ was, kan de NeuMoDx EBV Quant Assay (indien gewenst) worden herhaald met een ander aliquot deel van het specimen.
- Als de gedetecteerde EBV-waarde hoger dan de ULoQ was, kan de NeuMoDx EBV Quant Assay worden herhaald met een verdund aliquot deel van het oorspronkelijke specimen. Een verdunding van 1:100 of 1:1000 in EBV-negatief plasma of Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA, VS) 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.
- De incidentele 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.
- Een positief resultaat is niet altijd een indicatie voor de aanwezigheid van een actieve virale infectie. Een positief resultaat doet echter wel vermoeden dat er Epstein-Barr-virus-DNA aanwezig is.
- Hoewel onwaarschijnlijk, kunnen verwijderingen of mutaties in de geconserveerde gebieden van het EBV-genoom waar de NeuMoDx EBV Quant Assay zich op richt, gevolgen hebben voor de detectie of tot een foutief resultaat leiden bij gebruik van de NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- De resultaten van de NeuMoDx EBV 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 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 worden automatisch gegenereerd door de software van het NeuMoDx System, dat gebruikmaakt van het beslissingsalgoritme en de resultaatverwerkingsparameters die in het NeuMoDx EBV-assaydefinitiebestand (EBV Assay Definition File, EBV ADF) worden vermeld. Een NeuMoDx EBV Quant Assay-resultaat kan worden gerapporteerd als Negative (negatief), Positive (positief) met een gerapporteerde EBV-concentratie, Positive (positief) boven ULoQ, Positive (positief) onder LLoQ, Indeterminate (onbepaald) of Unresolved (onbekend), afhankelijk van de amplificatiestatus van het doelmateriaal en de monsterverwerkingscontrole. Resultaten worden gerapporteerd op basis van het beslissingsalgoritme in *tabel 1*.

Tabel 1: Beslissingsalgoritme NeuMoDx EBV Quant Assay

Resultaat	EBV	Monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control; SPC1)
Positive (Positief)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ en } EPR > 2 \text{ en } EP \geq 1500]$ OF $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ en } EP \geq 1500]$	N.v.t.
Positive, above Upper Limit of Quantitation (Positief, hoger dan de bovengrens voor kwantificering [ULOQ]) (\log_{10} IE/ml)	[CONC] > 8,0 \log_{10} IE/ml, geen quant	N.v.t.
Positive, below Lower Limit of Quantitation (Positief, lager dan de ondergrens voor kwantificering [LLOQ]) (\log_{10} IE/ml)	[CONC] < 2,3 \log_{10} IE/ml, geen quant	N.v.t.
Negatief	N.v.t. of $[2 \leq Ct < 9 \text{ en } EPR \leq 2]$ OF $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ en } EP < 1500]$ of $Ct > 38$	GEAMPLIFICEERD ($29 \leq Ct \leq 35$) en $EP \geq 2000$
Indeterminate (Onbepaald)	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (NIET GEAMPLIFICEERD / Systeemfouten gedetecteerd)	
Unresolved (Onbekend)	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NIET GEAMPLIFICEERD/Geen systeemfouten gedetecteerd)	

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

Quant = berekende hoeveelheid aanwezige EBV, uitgedrukt in \log_{10} IE/ml. Zie testberekening hieronder.

Testberekening

1. Voor monsters binnen het kwantificeringsbereik van de NeuMoDx EBV Quant Assay wordt de concentratie EBV-DNA in de monsters berekend met behulp van de opgeslagen standaardcurve in combinatie met de kalibratiecoëfficiënt.
 - a. 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 Strips met een bepaald NeuMoDx System vast te stellen.
 - b. 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 worden gerapporteerd in \log_{10} IE/ml.
3. De resulterende kwantificering van de onbekende monsters is herleidbaar naar de 1^e internationale norm van het WHO voor Epstein-Barr-virus voor nucleïnezuuramplificatietechnieken.

Testkalibratie

Om EBV-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 een testkalibratie worden uitgevoerd met behulp van door NeuMoDx Molecular, Inc. geleverde kalibrators.

Kalibrators

1. De NeuMoDx EBV Calibrators worden in een set geleverd [REF 800500] en bevatten niet-infectueus ingesloten EBV-doelmateriaal dat in Basematrix is bereid.
2. Bij elke nieuwe partij NeuMoDx EBV Quant Test Strips, 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:
 - 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 doel voor de lage kalibrator is $4 \log_{10}$ IE/ml en het nominale doel voor de hoge kalibrator is $6 \log_{10}$ IE/ml.
 - c) De kalibratiecoëfficiënt wordt berekend om verwachte variatie tussen partijen teststrips te verklaren; deze kalibratiecoëfficiënt wordt gebruikt bij het bepalen van de uiteindelijke EBV-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 NeuMoDx Molecular, Inc.

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. NeuMoDx Molecular, Inc. stuurt met de NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501] externe-controlemateriaal mee dat niet-infectueus ingesloten EBV-materiaal in Basematrix bevat voor positieve 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.
3. Haal een set externe controles uit de vriezer en laat deze ontdooien bij kamertemperatuur (15-30 °C) als externe controles zijn vereist. Zwenk voorzichtig om homogeniteit te verkrijgen.
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 er voor de test benodigde reagentia of verbruiksartikelen ontbreken.
5. De validiteit van externe controles wordt door het NeuMoDx System beoordeeld op basis van het verwachte resultaat. De positieve controle dient een EBV-positief resultaat op te leveren en de negatieve controle een EBV-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 herhaalt u de NeuMoDx EBV External Controls met een pas ontdoode flacon met de controle(s) die de validiteitstest niet heeft/hebben doorstaan.
 - d) Als de positieve NeuMoDx EBV External Control een Negative (Negatief) resultaat blijft opleveren, neemt u contact op met de klantenservice van NeuMoDx.
 - e) Als de negatieve NeuMoDx EBV External Control een Positive (Positief) resultaat blijft opleveren, probeer dan alle mogelijke besmettingsbronnen te verwijderen. Vervang daarbij ALLE reagentia en verbruiksartikelen 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 EBV Quant Test Strip, waardoor de aanwezigheid van SPC1 en het doel-EBV-DNA (indien aanwezig) kan worden gedetecteerd via multiplexe 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.

Als een NeuMoDx EBV Quant Assay die met het NeuMoDx System is uitgevoerd, geen geldig resultaat oplevert, wordt dit gerapporteerd als Indeterminate (IND) (Onbepaald) of Unresolved (UNR) (Onbekend), 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 EBV-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 monsterremming te verminderen.

PRESTATIEKENMERKEN

Analytische gevoeligheid – Detectielimiet op basis van de WHO-norm

De analytische gevoeligheid van de NeuMoDx EBV Quant Assay is gecontroleerd door het testen van EBV-negatieve plasmaspecimens die waren verrijkt met een lage verdunding van de 1^e internationale norm van het WHO voor EBV voor nucleïnezuuramplificatietechnieken. Deze controletest is uitgevoerd met de verwachte detectielimiet (Limit of Detection, LoD) van de NeuMoDx EBV Quant Assay op een NeuMoDx System bij 200 IE/ml. De LoD is daarbij gedefinieerd als het laagst detecteerbare doelniveau bij een percentage van $\geq 95\%$. Het onderzoek werd uitgevoerd op meerdere systemen en met gekwalificeerde partijen NeuMoDx-reagentia. De detectiepercentages zijn weergegeven in *tabel 2*.

Tabel 2: LoD-bepaling NeuMoDx EBV Quant Assay; Positief detectiepercentage voor plasmaspecimens

Doelwitconcentratie [IE/ml]	PLASMA		
	Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage
200	120	117	97,5%
0	60	0	0%

Analytische gevoeligheid – Ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

De ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) is gedefinieerd als de laagste doelconcentratie waarbij een detectie van $> 95\%$ werd bereikt EN de totale analytische fout (Total Analytical Error, TAE) $\leq 1,0$ was. Om te controleren of zowel de LoD als de LLoQ van de EBV Quant Assay een concentratie hadden van 200 IE/ml, is de TAE berekend aan de hand van de resultaten van de trefpercentagestudie. De berekende TAE is 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.

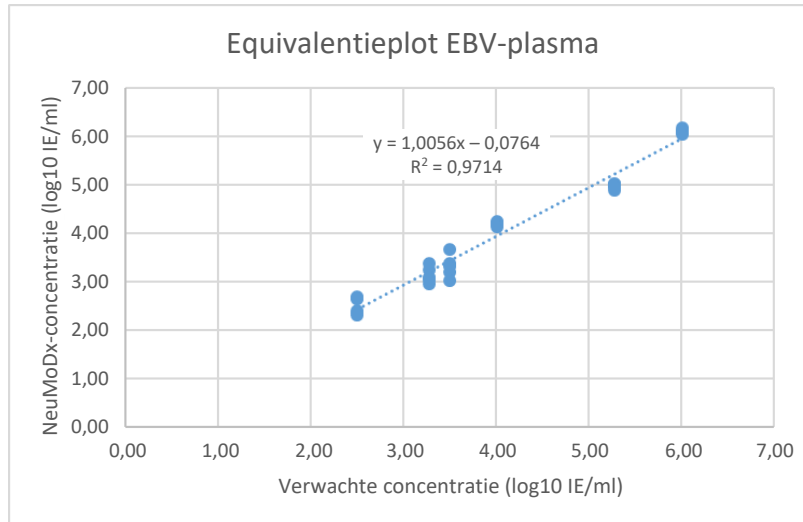
Tabel 3: LLoQ NeuMoDx EBV Quant Assay, met vertekening en TAE

Doelconc. [IE/ml]	Doelconc. [\log_{10} IE/ml]	Plasma				
		Gemiddelde conc. [\log_{10} IE/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Op basis van de resultaten van deze onderzoeken werden de LoD en LLoQ van de NeuMoDx EBV Quant Assay beide vastgesteld op 200,0 IE/ml [$2,30 \log_{10}$ 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 werden in plasma vastgesteld door een reeks verdundingen te bereiden met het NeuMoDx ingesloten EBV-doelmateriaal en Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX, VS) met een vastgestelde herleidbaarheid naar de 1^e internationale norm van de WHO voor EBV. Er werd een 10-ledenpaneel bereid in gebundeld EBV-negatief plasma om een paneel te creëren met een concentratiebereik van $2,0-8,0 \log_{10}$ IE/ml. De ULoQ van de NeuMoDx EBV Quant Assay werd vastgesteld op $8,0 \log_{10}$ IE/ml. Er werd een controlepaneel 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

Analytische specificiteit – Kruisreactiviteit

De analytische specificiteit is aangetoond door 35 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 tot 6 organismen. De geteste organismen staan in *tabel 4*. Bij geen enkel getest organisme werd kruisreactiviteit waargenomen, waardoor bevestigd is dat de NeuMoDx EBV Quant Assay een analytische specificiteit van 100% heeft.

Tabel 4: 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	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Analytische specificiteit – Interfererende stoffen, commensale organismen

De NeuMoDx EBV Quant Assay werd beoordeeld op interferentie in de aanwezigheid van niet-doelorganismen met behulp van dezelfde organismegroepen door voor de kruisreactiviteitstest waren bereid, zoals hierboven beschreven in *tabel 4*. EBV-negatief plasma werd verrijkt met 4-7 groepen organismen; deze groepen werden vervolgens verrijkt met EBV-doelmateriaal van 3 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 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 5*. Iedere stof werd toegevoegd aan gescreend EBV-negatief menselijke plasma dat was verrijkt met 3 log₁₀ IE/ml EBV. Vervolgens werden de monsters geanalyseerd op interferentie. 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 6*. Geen van de exogene en endogene stoffen had invloed op de specificiteit van de NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabel 5: 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)		Letermovir	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 6: Interferentietests - Exogene en endogene stoffen

Endogeen	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Hemoglobine	3,20	0,23
Triglyceriden	3,15	0,28
Bilirubine	3,48	-0,05
Albumine	3,2	0,22
Exogeen (geneesmiddelen)	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Pool 1: Azathioprine, cyclosporine, foscarnet, ganciclovir, valganciclovirhydrochloride	3,30	0,13
Pool 2: Prednison, cidofovir, cefotetan, cefotaxim, fluconazol	3,22	0,21
Pool 3: Mycofenolaatmofetil, mycofenolaatnatrium, piperacilline, sirolimus (rapamycine), tazobactam	3,36	0,07
Pool 4: Trimethoprim, vancomycine, tacrolimus, everolimus, clavulaanzuur	3,32	0,11
Pool 5: Famotidine, sulfamethoxazol, letermovir, valacyclovir, ticarcilline-dinatrium, leflunomide	3,47	-0,10
Ziektebeeld	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Systemische lupus erythematoses (SLE)	3,23	0,20
Antinucleair antilichaam (ANA)	3,33	0,10
Reumatoïde artritis (RA)	3,19	0,24

Binnen-laboratoriumprecisie

De precisie van de NeuMoDx EBV Quant Assay is bepaald door 3 replica's van een 4-ledenpanel van EBV-specimen, bereid met Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX, VS), driemaal per dag gedurende twee dagen te testen met twee NeuMoDx 288 Systems en één NeuMoDx 96 System. De precisie binnen een sessie, binnen een dag en binnen een systeem werd gekenmerkt en de algehele standaardafwijking bedroeg $\leq 0,33 \log_{10}$ IE/ml. Er werd een hoge precisie aangetoond binnen verschillende systemen, dagen of analyses, zoals weergegeven in *tabel 7*. 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 7: Binnen-laboratoriumprecisie – NeuMoDx EBV Quant Assay met NeuMoDx Systems

Doel-EBV-concentratie [\log_{10} IE/ml]	Gemiddelde EBV-concentratie [\log_{10} IE/ml]	SD binnen een systeem	Binnen Dag SD	Binnen Run SD	Totaal SD (binnen laboratorium)
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

Reproduceerbaarheid van partij tot partij

De reproduceerbaarheid van partij tot partij van de NeuMoDx EBV Quant Assay is vastgesteld door het testen van drie partijen sleutelreagentia – NeuMoDx EBV Quant Test Strips en Lysis Buffer 5 – als onderdeel van een kwaliteitscontrole (Qualification Testing, QT). De prestaties zijn beoordeeld met een 4-ledenpanel van EBV-positieve plasma (*tabel 8*). De variaties binnen één partij en tussen de partijen werden geanalyseerd en de resultaten zijn weergegeven in *tabel 8-9*. De maximale algehele vertekening was $0,03 \log_{10}$ IE/ml en de maximale algehele SD was $0,20 \log_{10}$ IE/ml voor NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips. De maximale algehele vertekening was $0,12 \log_{10}$ IE/ml en de maximale algehele SD was $0,41 \log_{10}$ IE/ml voor NeuMoDx Lysis Buffer 5. De gelijkwaardige prestaties tussen partijen werden aangetoond, aangezien de kwantificering van alle panelleden binnen de tolerantiespecificatie viel.

Tabel 8: Reproduceerbaarheid tussen partijen – NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

Doel-EBV-concentratie [IE/ml]	Gemiddelde EBV-concentratie [\log_{10} IE/ml]	N (geldige resultaten per partij)	Vertekening	SD tussen partijen	SD binnen partij	Algehele SD
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

Tabel 9: Reproduceerbaarheid tussen partijen – NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

Doel-EBV-concentratie [\log_{10} IE/ml]	Gemiddelde EBV-concentratie [\log_{10} IE/ml]	N (geldige resultaten per partij)	Vertekening	SD tussen partijen	SD binnen partij	Algehele SD
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

Effectiviteit van monsterverwerkingscontrole

De NeuMoDx EBV Quant Assay 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 $3 \log_{10}$ 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 10*. 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 10: 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 with Quantitation within 0.3 log ₁₀ IU/mL of Control (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 een vergelijkbaar, bloedoverdraagbaar DNA-virus, het cytomegalovirus (CMV). Er zijn drie sets van dergelijke dambordtesten uitgevoerd met in totaal 108 replica's van CMV-negatief plasma en 108 replica's van met CMV verrijkt plasma met 6,0 log₁₀ IE/ml. Alle 108 replica's van het negatieve specimen werden als negatief gerapporteerd, wat aantoont dat er geen kruisbesmetting was tijdens de verwerking van de plasmamonsters op het NeuMoDx System.

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. Vervolgens werden de monsters minimaal 24 uur bevroren bij een temperatuur van -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 11*.

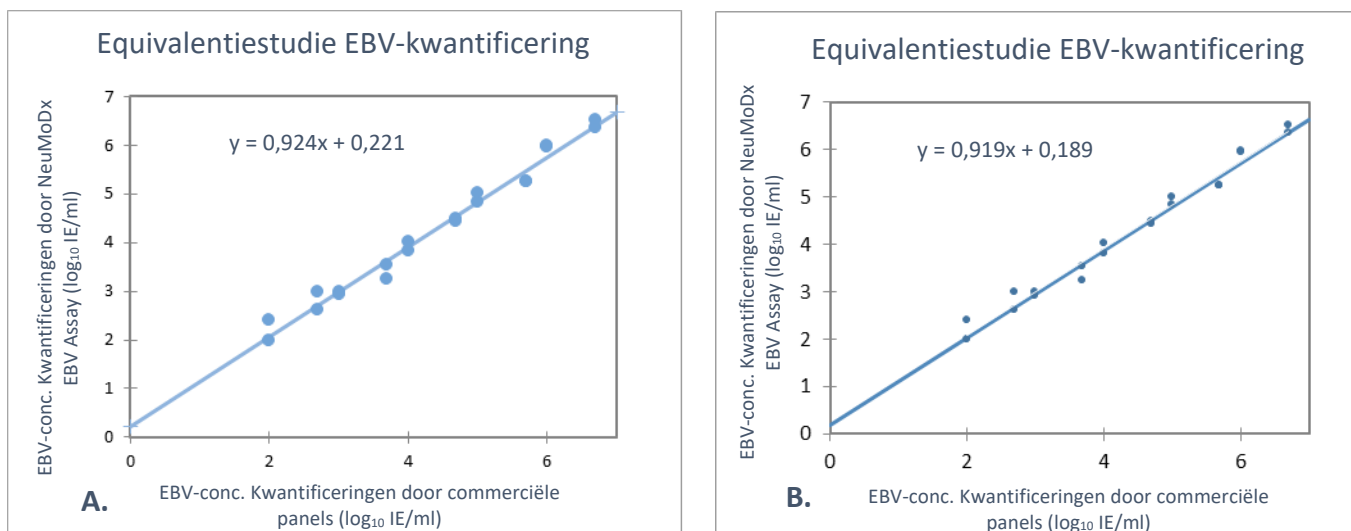
Tabel 11: Equivalentie specimenmatrix

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 kwantificeringsprestaties

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

Er werd een uitstekende correlatie verkregen tussen de NeuMoDx EBV Quant Assay en de twee commerciële EBV-verificatiepanelen (*afbeelding 3*) toen deze werden geanalyseerd met behulp van de Deming-regressiemethode (*afbeelding 3A*) of de Passing-Bablok-methode (*afbeelding 3B*).



Afbeelding 3. Equivalentieplot tussen verificatiepanels 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 0,92 en een intercept (vertekening) van 0,22, wat aantoont dat de concentratieresultaten van de NeuMoDx EBV Quant Assay en de EBV-verificatiepanels met elkaar correleren en een aanvaardbare vertekening hebben. De Passing-Bablok-lineariteitsanalyse onderbouwt daarbij de significantie van de correlatie tussen de resultaten die werden verkregen met de NeuMoDx EBV Quant Assay en EBV-verificatiepanels met een algehele hellingscoëfficiënt van 0,92 en een intercept (vertekening) van 0,19. De *p*-waarde van de Passing-Bablok-analyse is vastgesteld op 0,40.

Tabel 12: Overzicht van de lineaire regressieanalyse van Deming en Passing-Bablok

Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
Intercept	Hellingscoëfficiënt	Intercept	Hellingscoëfficiënt
0,22	0,92	0,19	0,92
95% BI (-0,11, 0,55)	95% BI (0,86; 0,99)	95% BI (-0,08; 0,41)	95% BI (0,87; 0,99)

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. Evidence based clinical practice guideline for management of EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in solid organ transplant. Cincinnati Children’s Hospital Medical Center. 2011- June, revised Jan, 2012.
<https://www.guidelinecentral.com/summaries/evidence-based-clinical-practice-guideline-for-management-of-ebv-associated-post-transplant-lymphoproliferative-disease-ptld-in-solid-organ-transplant/>
4. Epstein-Barr Virus and Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Solid Organ Transplant Recipients. American Journal of Transplantation 2009; 9 (Suppl 4): S87–S96. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02898.x
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. 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.

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.

SYMBOLLEN

SYMBOOL	BETEKENIS
R only	Gebruik uitsluitend op voorschrift
	Fabrikant
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IVD</div>	<i>In-vitro</i> diagnostisch medisch hulpmiddel
<div style="display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 2px;">EC</div> <div style="display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 2px; margin-left: 10px;">REP</div>	Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">REF</div>	Catalogusnummer
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">LOT</div>	Batchcode
	Uiterste gebruiksdatum
	Temperatuurbeperving
	Vochtigheidsbeperving
	Niet hergebruiken
	Inhoud voldoende voor <n> tests
	Raadpleeg de gebruikshandleiding
	Voorzichtig
	Biologische risico's
CE	CE-markering



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

Sponsor (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australië



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Nederland



Technische ondersteuning/alertheidsmeldingen: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents