

## EBV Quant-assay (Panther Fusion™)

voor *in vitro* diagnostisch gebruik

Alleen voor export uit de VS

### INHOUD

<b>Algemene informatie</b> .....	<b>2</b>
Beoogd gebruik .....	2
Samenvatting en uitleg van de test .....	2
Uitgangspunten van de procedure .....	2
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen .....	3
Eisen voor het bewaren en verwerken van reagentia .....	6
Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens .....	7
Specimens in het Panther Fusion-systeem .....	8
Transport van specimens .....	8
<b>Panther Fusion-systeem</b> .....	<b>9</b>
Geleverde reagentia en materialen .....	9
Benodigde en apart geleverde materialen .....	10
Optionele materialen .....	11
Testprocedure voor het Panther Fusion-systeem .....	11
Procedurele opmerkingen .....	16
<b>Kwaliteitscontrole</b> .....	<b>17</b>
Assaykalibratie .....	17
Negatieve en positieve controles .....	17
Interne controle .....	18
<b>Interpretatie van resultaten</b> .....	<b>19</b>
<b>Beperkingen</b> .....	<b>20</b>
<b>Prestaties</b> .....	<b>21</b>
Detectielimiet met behulp van de eerste internationale norm van de WHO .....	21
Lineair bereik .....	22
Ondergrens van kwantificering met behulp van de eerste internationale norm van de WHO .....	23
Bevestiging van de ondergrens van kwantificering van EBV-genotypen .....	25
Traceerbaarheid tot de eerste internationale standaard van de WHO .....	26
Binnen Laboratoriumprecisie .....	28
Potentieel storende stoffen .....	28
Analytische specificiteit .....	30
Correlatie van methoden .....	31
Overdracht/kruisbesmetting .....	32
<b>Literatuur</b> .....	<b>33</b>
<b>Contactgegevens</b> .....	<b>34</b>

## Algemene informatie

### Beoogd gebruik

De Panther Fusion™ EBV Quant-assay is een volledig geautomatiseerde real-time PCR (RT-PCR) *in vitro* nucleïnezuuramplificatietest voor de kwantificering van humaan Epstein-Barr-virus (EBV)-DNA in menselijk EDTA-plasma en volbloedspecimens.

De Panther Fusion EBV Quant-assay is bedoeld voor gebruik als hulpmiddel bij de diagnose en bij de behandeling van patiënten met een orgaantransplantatie en patiënten met een hematopoëtische stamceltransplantatie.

De Panther Fusion EBV Quant-assay is niet bedoeld voor gebruik als screeningsassay voor de aanwezigheid van EBV in bloed of bloedproducten. Deze assay is bedoeld voor gebruik op het Panther Fusion-systeem.

### Samenvatting en uitleg van de test

EBV is een alomtegenwoordig, lineair dubbelstrengs DNA-virus van 172 kb dat behoort tot de herpesvirusfamilie. Er zijn twee belangrijke EBV-genotypen, Type 1 en 2, die zich onderscheiden door de verschillen in het EBNA-2-gen.

Na een primaire infectie komt EBV de circulerende B-lymfocyt binnen en blijft daarna in een latente toestand. Naar schatting is 90% van de wereldbevolking besmet met EBV.<sup>1</sup> Bij immunocompetente personen kan EBV-infectie tijdens de kindertijd asymptomatisch zijn. De EBV-infectie kan echter leiden tot infectieuze mononucleosis<sup>2</sup> bij volwassenen en wordt in verband gebracht met verschillende soorten kanker: lymfomen, leukemieën, epitheliale maligniteiten en maagkanker.<sup>3</sup>

Bij immuungecompromitteerde personen, zoals ontvangers van transplantaten en personen die zijn geïnfecteerd met het humaan immunodeficiëntievirus (HIV), kan de reactivering van EBV leiden tot kwaadaardige lymfoproliferatie en is dit een belangrijke oorzaak van morbiditeit en mortaliteit. De meeste van deze EBV-geassocieerde tumoren, bekend als "lymfoproliferatieve post-transplantatieziekte" (PTLD), treden vaak op binnen het eerste jaar na transplantatie.<sup>3</sup>

Kwantitatieve nucleïnezuuramplificatietests van volbloed- of plasmaspecimens hebben de voorkeur voor het bewaken van EBV-infectie en ziekte bij ontvangers van een transplantaat, omdat het snel, gevoelig, gemakkelijk en niet-invasief is. Recente richtlijnen bevelen een wekelijkse controle van de EBV-virusbelasting aan ter ondersteuning van beslissingen om anti-EBV-therapie te starten en om de respons op de therapie te controleren.<sup>4</sup>

Doorgaans zijn hogere virale belastingwaarden gecorreleerd met een verhoogd risico op EBV-gerelateerde ziekte.<sup>5</sup> Kwantificering van EBV-DNA in combinatie met klinische presentatie en andere laboratoriummarkers is derhalve cruciaal bij de behandeling van patiënten met EBV-infectie.

### Uitgangspunten van de procedure

Het Panther Fusion-systeem automatiseert de verwerking van specimens volledig, inclusief cellysis, nucleïnezuurvangst, amplificatie en detectie voor de Panther Fusion EBV Quant-assay. De Panther Fusion EBV Quant-assay richt zich op het sterk geconserveerde EBNA-1-gen om een nauwkeurige kwantificering van EBV-DNA te garanderen. De test is gestandaardiseerd volgens de eerste internationale WHO-standaard (NIBSC-code: 09/260) voor EBV.<sup>6</sup>

**Verwerken van specimens en het opvangen van nucleïnezuur:** Een interne controle (IC-B) wordt automatisch aan elk specimen toegevoegd via het werkende Fusion opvangreagens-B (wFCR-B) om te controleren op interferentie tijdens specimenverwerking, amplificatie en detectie veroorzaakt door falen van het reagens of remmende stoffen. Specimens worden eerst toegevoegd aan Fusion opvangreagens-B (FCR-B) en Fusion versterkerreagens-B (FER-B) om nucleïnezuur vrij te maken voor hybridisatie met magnetische deeltjes. De vangdeeltjes worden vervolgens in een magnetisch veld gescheiden van de resterende specimenmatrix door een reeks stappen van wassen met een mild reinigingsmiddel. Het opvangen nucleïnezuur wordt vervolgens geëluëerd van de magnetische deeltjes met een reagens met een lage ionsterkte (Panther Fusion elutiebuffer).

**Opmerking:** Het Panther Fusion-systeem voegt de IC-B toe aan de FCR-B. Nadat de IC-B is toegevoegd aan de FCR-B, wordt deze wFCR-B genoemd.

**PCR-amplificatie en fluorescentiedetectie:** Gevriesdroogde PCR-mastermix met enkelvoudige eenheidsdosis wordt gereconstitueerd met de Panther Fusion reconstitutiebuffer I en gecombineerd met het geëluëerde nucleïnezuur in een reactiebuisje. Panther Fusion oliereagens wordt toegevoegd om verdamping tijdens de PCR-reactie te voorkomen. Op PCR gebaseerde doelamplificatie vindt vervolgens plaats met doelspecifieke voorwaartse en achterwaartse primers die een fluorescentiesignaal genereren.

Het Panther Fusion-systeem levert een Ct-waarde die evenredig is met de EBV-concentratie in de testspecimens. De specimenconcentratie wordt bepaald door de Panther Fusion-systeemsoftware met behulp van de EBV Ct-waarden voor elke reactie en deze te vergelijken met de kalibratiecurve. EBV-resultaten worden gerapporteerd in IE/mL en  $\log_{10}$  IE/mL voor zowel volbloed- als plasmaspecimens. Wanneer de volbloedconversiefactor is geselecteerd in de Panther Fusion-software, wordt automatisch een verdunningsfactor van 4 toegepast op de EBV-virale ladingsresultaten om rekening te houden met de verdunningsstap tijdens de verwerking van volbloedspecimens.

De doelen en de kanalen die worden gebruikt voor hun detectie op het Panther Fusion-systeem staan samengevat in de onderstaande tabel:

Doel	Doelgen	Kanaal op het instrument
EBV	EBNA-1	HEX
Interne controle	Niet van toepassing	Quasar 705


## Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Voor *in-vitro* diagnostiek.
- B. Voor professioneel gebruik.
- C. Lees aandachtig de hele bijsluiters en de *Panther/Panther Fusion-systeem Gebruikershandleiding* voordat u deze assay uitvoert.
- D. Het Panther Fusion versterkerreagens-B (FER-B) is bijtend, schadelijk bij inslikken en veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel.
- E. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van deze assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedures uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures binnen de instelling.

- F. De specimens kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen bij het uitvoeren van deze assay. De directeur van het laboratorium moet de juiste hanterings- en verwijderingsmethoden vaststellen. Alleen personeel dat afdoende is getraind in het verwerken van besmettelijke materialen, mag worden toegestaan om deze diagnostische procedure uit te voeren.<sup>7</sup>
- G. Pas de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen voor laboratoria toe. Niet met de mond pipetteren. Eet, drink en rook niet in de aangegeven werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en laboratoriumjassen tijdens het verwerken van specimens en reagens. Was uw handen grondig na het hanteren van specimens en reagentia.
- H. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven wegwerpartikelen voor in het laboratorium.
- I. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing.
- J. Gooi alle materialen die in contact zijn geweest met specimens en reagentia weg conform de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving.
- K. Zorg dat de specimens worden verzonden onder de juiste bewaaromstandigheden om ervoor te zorgen dat ze intact blijven. De stabiliteit van de specimens in andere transportomstandigheden dan aanbevolen is niet geëvalueerd.
- L. Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de specimens worden verwerkt. Wees vooral voorzichtig als u de doppen van de specimens losmaakt of verwijdert om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Specimens kunnen een extreem hoog gehalte aan virussen of andere organismen bevatten. Zorg ervoor dat specimenhouders niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet af boven open containers. Vervang uw handschoenen als deze met een specimen in contact komen en/of in contact zijn geweest.
- M. Gebruik de reagentia, kalibrators of controles niet na de uiterste gebruiksdatum. Gebruik de Aptima™-buis voor volbloedverdunner niet na de uiterste gebruiksdatum.
- N. Sla de assaycomponenten op volgens de aanbevolen bewaaromstandigheden. Zie *Eisen voor het bewaren en verwerken van reagentia* en *Testprocedure voor het Panther Fusion-systeem* voor meer informatie.
- O. Assayreagentia of vloeistoffen mogen niet worden gecombineerd. Flessen voor reagentia of vloeistoffen mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther Fusion-systeem controleert het niveau van de reagentia.
- P. Voorkom microbiële en nuclease contaminatie van de reagentia.
- Q. De vereiste kwaliteitscontroles moeten worden uitgevoerd conform lokale, provinciale en/of nationale voorschriften of accreditatie-eisen en standaardprocedures voor kwaliteitscontrole van elk laboratorium.
- R. Gebruik het assaypatroon niet als de verzegeling van de opbergzak is verbroken of als de folie van het assaypatroon niet intact is. Neem contact op met de afdeling Technische Ondersteuning van Hologic als van een van beide sprake is.
- S. Gebruik de vloeistofverpakkingen niet als de folieverzegeling niet intact is. Neem contact op met de afdeling Technische Ondersteuning van Hologic als dat gebeurt.

- T. Hanteer de assaypatronen voorzichtig. Laat de assaypatronen niet vallen en keer ze niet om. Vermijd langdurige blootstelling aan omgevingslicht.
- U. Enkele reagentia van deze kit zijn geëtiketteerd met risico- en veiligheidssymbolen.

**Opmerking:** Gevarencommunicatie volgt de classificaties in veiligheidsinformatiebladen (SDS) van de EU. Voor informatie met gevarencommunicatie die specifiek is voor uw regio raadpleegt u de voor de regio bestemde SDS in de bibliotheek met veiligheidsgegevensbladen via [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com).

Europese gevareninformatie	
	<p><b>Panther Fusion EBV Quant-assaycartridge</b> <i>Alpha-cyclodextrin 20-25%</i></p> <p>— —</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen P273 - Voorkom lozing in het milieu P280 - Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>
	<p><b>Panther Fusion olie</b> <i>Polydimethylsiloxane 100%</i></p> <p><b>Waarschuwing</b> H315 - Veroorzaakt huidirritatie H319 - Veroorzaakt ernstige oogirritatie</p>
	<p><b>Panther Fusion Versterkerreagentia-B (FER-B)</b> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10%</i></p> <p><b>Gevaar</b> H302 - Schadelijk bij inslikken H314 - Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel P260 - Stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel niet inademen P280 - Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen P303 + P361 + P353 - BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken - huid met water afspoelen/afdouchen P305 + P351 + P338 - BIJ CONTACT MET DE OGEN: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten; contactlenzen verwijderen, indien mogelijk; blijven spoelen P310 - Onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts raadplegen P280 - Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>
	

**Eisen voor het bewaren en verwerken van reagentia**

A. In onderstaande tabel staan de eisen ten aanzien van het bewaren en verwerken voor deze assay.

Reagent [Reagens]	Ongeopend bewaren	In systeem/ Open stabiliteit <sup>1</sup>	Geopend bewaren
Panther Fusion EBV Quant-assaycartridge	2°C tot 8°C	60 dagen	2°C tot 8°C <sup>2</sup>
Panther Fusion Opgangreagentia-B (FCR-B)	15°C tot 30°C	30 dagen	15°C tot 30°C
Panther Fusion Versterkerreagentia-B (FER-B)	15°C tot 30°C	30 dagen	15°C tot 30°C
Panther Fusion interne controle-B (IC-B)	2°C tot 8°C	(In wFCR-B)	Niet van toepassing
Panther Fusion-elutiebuffer	15°C tot 30°C	60 dagen	15°C tot 30°C
Panther Fusion olie	15°C tot 30°C	60 dagen	15°C tot 30°C
Panther Fusion-reconstitutiebuffer I	15°C tot 30°C	60 dagen	15°C tot 30°C
Panther Fusion EBV Quant-kalibrators (1-5)	-15°C tot -35°C	Wegwerpflacon	Niet van toepassing, eenmalig gebruik
Panther Fusion EBV-BKV Quant hoog positieve Controle	-15°C tot -35°C	Wegwerpflacon	Niet van toepassing, eenmalig gebruik
Panther Fusion EBV-BKV Quant laag positieve controle	-15°C tot -35°C	Wegwerpflacon	Niet van toepassing, eenmalig gebruik
Panther Fusion Transplantaat negatieve controle (III)	-15°C tot -35°C	Wegwerpflacon	Niet van toepassing, eenmalig gebruik

Wanneer reagentia uit het Panther Fusion-systeem worden gehaald, moeten deze onmiddellijk opnieuw op de juiste opslagtemperatuur worden gebracht.

<sup>1</sup> De stabiliteit in het systeem begint op het moment dat het reagens op het Panther Fusion-systeem wordt geplaatst voor de Panther Fusion EBV Quant-assaycartridge, FCR-B, FER-B en IC-B. De stabiliteit in het systeem voor de Panther Fusion-reconstitutiebuffer I, de Panther Fusion-elutiebuffer en de Panther Fusion oliereagentia begint wanneer het reagenspakket voor het eerst wordt gebruikt.

<sup>2</sup> Wanneer de assaycartridge uit het Panther Fusion-systeem wordt verwijderd, sla deze dan op in een luchtdichte houder met droogmiddel bij de aanbevolen opslagtemperatuur.

B. Working Panther Fusion opvangreagens-B (wFCR-B) en Panther Fusion versterkerreagens-B (FER-B) zijn 60 dagen stabiel wanneer ze worden afgedekt en bewaard bij 15°C tot 30°C. Niet koelen.

C. Voer ongebruikte reagentia af waarvan de stabiliteit is afgenomen.

D. Vermijd kruisbesmetting tijdens de verwerking en opslag van reagentia.

E. **Reagentia mogen niet worden ingevroren.**

F. **Vries controles of kalibrators niet opnieuw in.**

## Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens

**Specimens** – Klinisch materiaal verzameld bij een patiënt en in een geschikt transportsysteem geplaatst. Voor de Panther Fusion EBV Quant-assay omvat dit volbloedspecimens die zijn afgenomen in buisjes met EDTA-anticoagulantia of plasmabereidingsbuisjes (PPT's).

**Specimens** – Vertegenwoordigt een meer algemene term voor het beschrijven van materiaal voor testen op het Panther Fusion-systeem, inclusief specimens, verwerkte specimens die zijn overgebracht naar een volbloed-verdunningsbuis, kalibrators en controles.

**Opmerking:** *Behandel alle specimens alsof ze potentieel besmettelijke stoffen bevatten. Pas universele voorzorgsmaatregelen toe.*

**Opmerking:** *Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de specimens worden verwerkt. Voer gebruikt materiaal bijvoorbeeld niet over open buisjes af.*

**Opmerking:** *Voor het bewaren van specimens worden alleen plastic secundaire buisjes aanbevolen.*

### A. Verzamelen van specimens

Volbloedspecimens die in de volgende glazen of kunststof buisjes zijn afgenomen, kunnen worden gebruikt voor het prepareren van plasma:

- Buisen die EDTA-anticoagulantia bevatten
- PPT-buisjes (Plasma Preparation Tubes)

### B. Verwerking van het specimen

1. Plasma: Volbloed kan worden bewaard bij 2°C tot 30°C en moet binnen 24 uur na specimenafname worden gecentrifugeerd. Plasma kan worden bereid uit primaire buisjes van EDTA of PPT. Scheid het plasma van de gepelleteerde rode bloedcellen volgens de instructies van de fabrikant voor de gebruikte buis. Plasma kan worden getest op het Panther Fusion-systeem in een primaire buis of worden overgebracht naar een secundaire buis zoals een Aptima Specimen aliquotbuis (SAT).

Raadpleeg de volgende tabel om te zorgen voor voldoende specimenvolume:

*Tabel 1: Minimaal specimenvolume*

Buis (afmeting en type)	Minimumvolume voor 1 replicaat
Aptima SAT-buisje (Specimen aliquotbuis)	0,6 mL
12 x 75 mm	0,9 mL
13 x 100 mm	0,9 mL
13 x 100 mm met gel	0,7 mL
16 x 100 mm met gel	1,1 mL

Indien niet direct getest, kan plasma worden bewaard volgens de specificaties in *Voorwaarden voor het bewaren van specimens*. Indien overgebracht naar een secundaire buis, kan plasma worden ingevroren bij -20°C of -70°C. Vries geen plasmaspecimens in primaire EDTA-verzamelbuisjes in.

2. Volbloed moet worden verwerkt met behulp van voorgevulde buisjes met verdunningsmiddel voor volbloed voordat het op het Panther Fusion-systeem wordt getest. Voor meer informatie, zie *Werken met volbloedspecimens*.

### C. Voorwaarden voor het bewaren van specimens

Specimens kunnen worden bewaard onder een van de volgende voorwaarden:

#### 1. Plasmastabiliteit

- Onverwerkte specimens zijn na centrifugeren 24 uur stabiel bij 2°C tot 30°C.
- Onverwerkte specimens zijn na centrifugeren 5 dagen stabiel bij 2°C tot 8°C.
- Onverwerkte en verwerkte specimens blijven stabiel gedurende 60 dagen bij een temperatuur van -20°C of -70°C.

#### 2. Volbloedstabiliteit

- Onverwerkte specimens zijn 36 uur stabiel bij 2°C tot 30°C.
- Onverwerkte specimens zijn 5 dagen stabiel bij 2°C tot 8°C.
- Onverwerkte en verwerkte specimens blijven stabiel gedurende 60 dagen bij een temperatuur van -20°C of -70°C.

### Specimens in het Panther Fusion-systeem

Plasmaspecimens en verwerkte volbloedspecimens kunnen maximaal 8 uur zonder dop op het Panther Fusion-systeem worden gelaten. Specimens mogen uit het Panther Fusion-systeem worden verwijderd en getest zolang de totale tijd in het systeem niet meer dan 8 uur bedraagt voordat het specimen door het Panther Fusion-systeem wordt gepipetteerd.

### Transport van specimens

Handhaaf de opslagcondities van het specimen tijdens het transport zoals beschreven onder *Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens*.

**Opmerking:** *Specimens moeten worden getransporteerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving voor transport.*



## Panther Fusion-systeem

Het Panther Fusion-systeem is een geïntegreerd nucleïnezuurteststelsel dat alle stappen die nodig zijn om verschillende Panther Fusion-assays uit te voeren volledig automatiseert, van specimenverwerking tot amplificatie, detectie en gegevensreductie.

### Geleverde reagentia en materialen

#### Assay-verpakking

Componenten	Artikelnr.	Bewaren
<b>Panther Fusion EBV Quant assaykalibrators</b> PCAL 1 qEBV, 3 per doos PCAL 2 qEBV, 3 per doos PCAL 3 qEBV, 3 per doos PCAL 4 qEBV, 3 per doos PCAL 5 qEBV, 3 per doos	PRD-07159	-15°C tot -35°C
<b>Panther Fusion EBV-BKV Quant assay-controles</b> HPC High Positive Control-buisje, 5 per doos LPC Low Positive Control-buisje, 5 per doos NC III Transplant Negative Control-buisje, 5 per doos	PRD-07158	-15°C tot -35°C
<b>Panther Fusion EBV Quant assaycartridge 96 tests</b> Panther Fusion qEBV testcartridge, 12 tests, 8 per doos	PRD-07157	2°C tot 8°C
<b>Panther Fusion interne controle-B 960-tests</b> Panther Fusion interne controle-B buisje, 4 per doos	PRD-06234	2°C tot 8°C
<b>Panther Fusion-extractiereagens-B 960-tests</b> Panther Fusion opvangreagens-B-fles, 240 tests, 4 per doos Panther Fusion versterkerreagens-B fles, 240 tests, 4 per doos	PRD-06232	15°C tot 30°C
<b>Panther Fusion Elution Buffer (elutiebuffer) 2400 Tests</b> Panther Fusion Elution Buffer-pakket, 1200 tests, 2 per doos	PRD-04334	15°C tot 30°C
<b>Panther Fusion Reconstitution Buffer I (reconstitutiebuffer I) 1920 Tests</b> Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 960 Tests, 2 per doos	PRD-04333	15°C tot 30°C
<b>Panther Fusion oliereagens 1920 Tests</b> Panther Fusion oliereagens, 960 tests, 2 per doos	PRD-04335	15°C tot 30°C

## Benodigde en apart geleverde materialen

**Opmerking:** Voor materialen die bij Hologic verkrijgbaar zijn, is het catalogusnummer vermeld, tenzij ze op andere wijze zijn gespecificeerd.

Materiaal	Cat. nr.
Panther System	303095
Panther Fusion Module	PRD-04173
Panther Fusion-systeem	PRD-04172
Aptima-assayvloeistofkit (Vloeistoffenpakket: Aptima wasoplossing, Aptima buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima oliereagens)	303014 (1000 tests)
Multi-tube units (MTU's, uit meerdere buisjes bestaande eenheden)	104772-02
Panther Waste Bag Kit (afvalzakpakket)	902731
Panther Waste Bin Cover (afvalbakdeksel)	504405
Of runkit voor het Panther System bevat MTU's, afvalzakken, deksels van afvalbakken, testvloeistoffen en automatische detectie*	303096 (5000 tests)
Tips, 1000 µL, gefilterd, vloeistofgevoelig, geleidend en wegwerpbaar:  <i>Sommige producten zijn niet in alle regio's verkrijgbaar. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor specifieke informatie over de verkrijgbaarheid in uw regio.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Panther Fusion buistrays, 1008 tests, 18 trays per doos	PRD-04000
Volbloed verdunningsbuisjes (alleen voor het verwerken van volbloedspecimens)	PRD-06783 (100 voorgevulde buisjes per zak)
Vervangende Hologic Solid Caps (buisdop voor eenmalig gebruik)	PRD-06720 (100 doppen per zak)
Bleekmiddel, 5% tot 8,25% (0,7 M tot 1,16 M) natriumhypochlorietoplossing	—
Poederloze wegwerphandschoenen	—
Laboratoriumtafellaken met plastic achterkant	—
Pluisvrije doekjes	—
Pipet	—
Tips [Tips]	—
Opties voor primaire opvangbuisjes (EDTA en PPT): 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

\*Alleen nodig voor Panther Aptima TMA Assays.

## Optionele materialen

Materiaal	Cat. nr.
Opties secundaire buisjes:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-SAT-buisjes (100 stuks)	503762
Transportbuisdop (100 stuks) <i>dop voor SAT-buis</i>	504415
Aptima-specimenverdunningsmiddel	PRD-03003
Aptima-specimenverdunningsmiddelkit <i>bevat Aptima Specimenverdunningsmiddel, 100 SAT's en 100 caps</i>	PRD-03503
Transferpipetten	—
Schudmachine	—

## Testprocedure voor het Panther Fusion-systeem

**Opmerking:** Raadpleeg de Panther/Panther Fusion-systeem Gebruikershandleiding voor aanvullende procedurele informatie.

### A. Voorbereiding van het werkoppervlak

1. Veeg werkoppervlakken af met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut intrekken en spoel de werkoppervlakken daarna af met gedeïoniseerd (DI) water. De natriumhypochlorietoplossing mag niet opdrogen. Bedek het werkoppervlak met schone, absorberende laboratoriumtafelakens met een plastic achterkant.
2. Reinig een apart deel van het werkoppervlak waar specimens worden bereid. Gebruik de hierboven beschreven procedure (Stap A.1).
3. Reinig de pipetten. Gebruik de hierboven beschreven reinigingsprocedure (Stap A.1).

### B. Voorbereiding van kalibrators en controles

Laat de kalibrators en controles als volgt op 15°C tot 30°C komen voordat ze worden verwerkt:

1. Haal de kalibrators en controles uit de opslag (-15°C tot -35°C) en plaats ze op 15°C tot 30°C. Keer tijdens het ontdooiproces elke buis voorzichtig om om grondig te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van het buisje volledig ontdooid is.

**Optie.** Kalibrator- en controlebuisjes mogen op een schudmachine worden geplaatst om de inhoud goed te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van het buisje volledig ontdooid is.

**Opmerking:** Voorkom dat er overmatig schuim ontstaat bij het omkeren van de kalibrators en bedieningselementen. Schuim verstoort de niveauwaarneming door het Panther Fusion-systeem.

2. Droog na ontdooiing van de inhoud de buitenkant van het buisje af met een schoon, droog wegwerpdoekje.
3. Open de buisjes niet om vervuiling te voorkomen.

## C. Prepareren van het reagens

1. Verwijder de flessen met IC-B, FCR-B en FER-B uit de opslag.
2. Meng FCR-B totdat de kralen volledig zijn opgeschort. Vermijd schuimvorming tijdens deze stap.
3. Open de flessen IC-B, FCR-B en FER-B en gooi de doppen weg. Open de TCR-deur bovenaan in het Panther Fusion-systeem.
4. Plaats de IC-B-, FCR-B- en FER-B-flessen in de juiste posities op de TCR-carrousel.
5. Sluit de TCR-deur.

**Opmerking:** Het Panther Fusion-systeem voegt de IC-B toe aan de FCR-B. Nadat de IC-B wordt toegevoegd aan de FCR-B, wordt hiernaar verwezen als wFCR-B (werkende FCR-B). Als de wFCR-B en FER-B uit het systeem worden verwijderd, gebruik dan nieuwe doppen en bewaar ze onmiddellijk volgens de juiste bewaarcondities.

## D. Verwerken van specimens

**Opmerking:** Bereid specimens voor volgens de instructies in hoofdstuk Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens voordat u specimens op het Panther Fusion-systeem laadt.

Inspecteer specimenbuisjes voordat u ze in het specimenrek plaatst. Als een specimenbuis luchtbelletjes bevat of een lager volume dan normaal gesproken waargenomen wordt, tik dan voorzichtig op de onderkant van het buisje om de inhoud naar de bodem te laten bezinken.

## E. Werken met plasmaspecimens

1. Zorg ervoor dat verwerkte specimens in primaire buisjes of onverdunde specimens in secundaire buisjes op de juiste manier worden bewaard conform *Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens*.
2. Controleer of bevroren specimens goed ontdooid zijn. Vortex de ontdooidde specimens gedurende 3 tot 5 seconden om grondig te mengen.
3. Zorg dat de specimens zich tussen 15°C en 30°C bevinden vóór verwerking. Raadpleeg *Specimens in het Panther Fusion-systeem* voor aanvullende informatie.
4. Zorg ervoor dat elk primair of secundair buisjes voldoende specimens bevat. Raadpleeg Tabel 1 voor minimaal specimenvolume voor 1 replica.
5. Vlak voordat u de specimens in een specimenrek plaatst, centrifugeert u elk specimen gedurende 10 minuten op 1000 tot 3000g. Verwijder bij deze stap geen doppen.

Zie stap G.2 hieronder voor informatie over het plaatsen van het rek en het verwijderen van de doppen.

## F. Werken met volbloedspecimens

1. Zorg ervoor dat specimens in primaire buisjes op de juiste manier bewaard worden conform *Verzamelen, verwerken en bewaren van specimens*.
2. Controleer of bevroren specimens goed ontdooid zijn. Zorg dat de specimens zich tussen 15°C en 30°C bevinden vóór verwerking. Raadpleeg *Specimens in het Panther Fusion-systeem* voor aanvullende informatie.
3. Keer de buisjes met volbloed ten minste 3 keer voorzichtig om, of meng voorzichtig op een schudapparaat, totdat het bloed tot een homogene substantie geschud is.
4. Voer de volgende procedure uit op elk specimen voordat u het op het systeem laadt.
  - a. Bloed in de primaire buisjes moet grondig worden gemengd door inversie en het sample moet onmiddellijk worden overgebracht in het buisje met volbloed-verdunningsmiddel.

- b. Voeg 500 µL volbloedspecimen toe aan de voorgevulde buis met verdunningsmiddel voor volbloed.
  - c. Plaats de dop terug en vortex het specimen gedurende minimaal 5 seconden.
- Zie stap G.2 hieronder voor informatie over het plaatsen van het rek en het verwijderen van de doppen.

#### G. Voorbereiding van het systeem

1. Voor instructies over het instellen van het Panther Fusion-systeem, inclusief het laden van speciemens, reagentia, testcartridges en universele vloeistoffen, raadpleegt u de *Panther/Panther Fusion-systeem Gebruikershandleiding* en *Procedurele opmerkingen*.
2. Plaats de speciemens in het specimenrek. Voer de volgende stappen uit voor elk specimenbuisje (specimen en, indien nodig, kalibrators en controles):
  - a. Maak één speciemendop los, maar verwijder de dop nog niet.

**Opmerking:** Wees vooral voorzichtig om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Draai de doppen op de specimenbuisjes voorzichtig los.
  - b. Plaats de specimenbuis in het specimenrek.
  - c. Herhaal stappen 2.a en 2.b voor elk overblijvend specimen.
  - d. Wanneer de specimenbuisjes in het specimenmagazijn zijn geplaatst, dient u de dop van elke specimenbuis in één specimenmagazijn los te draaien en af te voeren. Houd een dop niet boven andere specimenmagazijnen of specimenbuisjes om besmetting te voorkomen.
  - e. Gebruik zo nodig een nieuwe wegwerptransferpipet om luchtbellens of schuim te verwijderen. Luchtbellens in het buisje verstoren detectie van het vloeistofpeil door het Panther Fusion-systeem.
  - f. Wanneer de laatste dop is verwijderd, laadt u het specimenrek in de specimenbay.

**Opmerking:** Als u tegelijkertijd andere assays met andere specimentypes uitvoert, zet de specimenhouder dan vast voordat u het specimenrek in het specimenvak plaatst.
  - g. Herhaal stappen 2.a t/m 2.f voor het volgende specimenrek.

#### H. Voorbereiding van het systeem: De conversiefactor voor volbloedspecimens toepassen

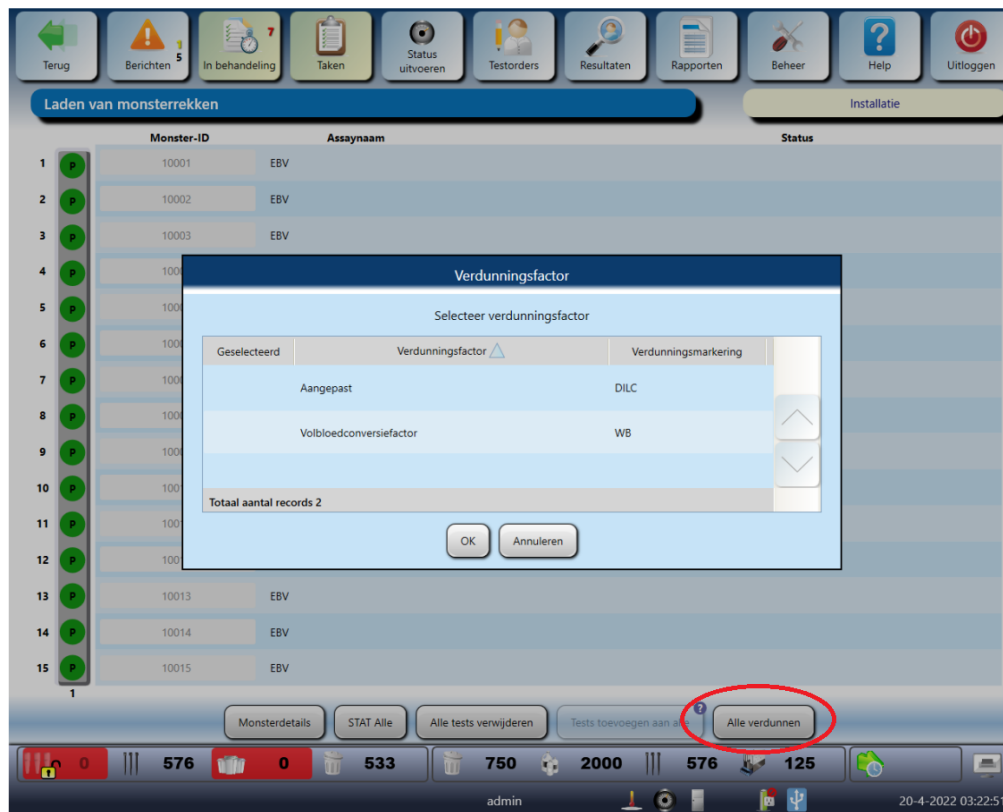
1. Stel het systeem in volgens de instructies in de gebruikershandleiding van het *Panther/Panther Fusion-systeem*.
2. Plaats het specimenrek.
3. Pas de conversiefactor voor volbloed toe op testorders voor volbloedspecimens.

**Opmerking:** De volbloedconversiefactor kan worden toegepast op een heel rek of op een enkele testorder.

De volbloedconversiefactor toepassen op een heel rek volbloedspecimens:

- a. In het scherm *Specimenrek* dubbelklikt u op het betreffende rek dat geplaatst is. Het scherm *Specimenrek laden* verschijnt voor het geselecteerde rek.
- b. Selecteer **Alles verdunnen**.

Het venster *Verdunningsfactor* verschijnt (Afbeelding 1).

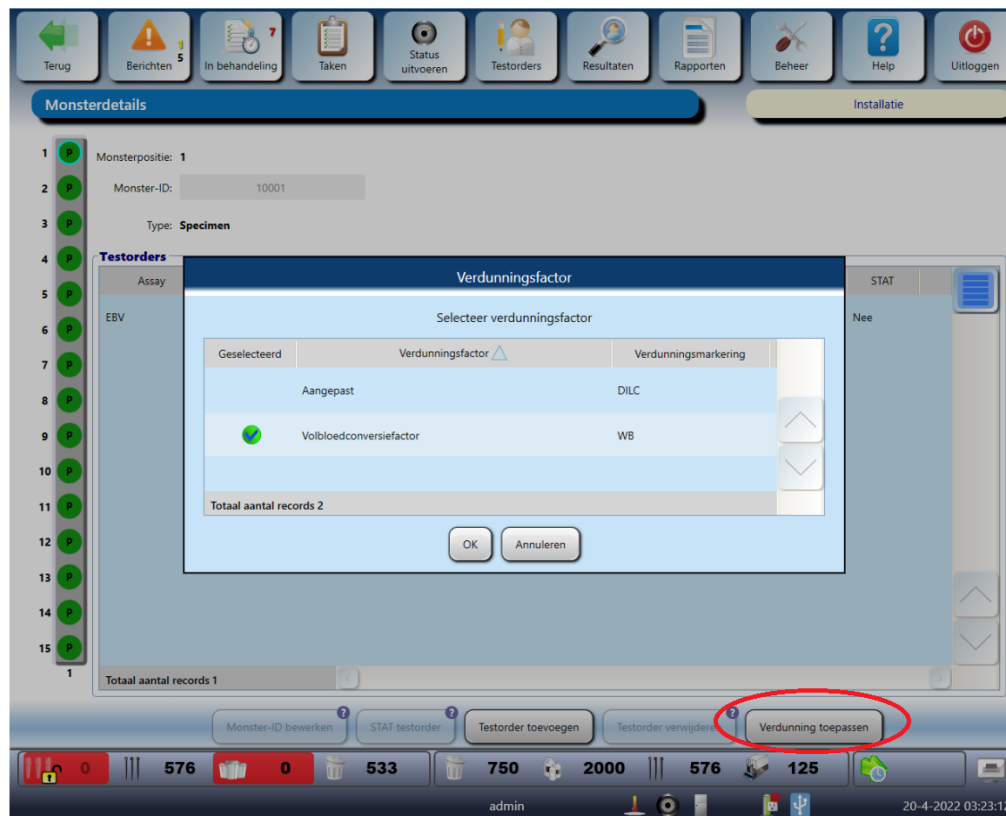


**Afbeelding 1.** Het venster *Verdunningsfactor* in het laadscherm van het specimenrek (voorbeeld)

- c. Selecteer **Volbloedconversiefactor**.
- d. Selecteer **OK**.  
Een *ingestelde verdunningsfactor* voor rekvenster verschijnt.
- e. Selecteer **Ja** om de volbloedconversiefactormarkering toe te passen op het hele rek met volbloedspecimens.

Om de volbloedconversiefactor toe te passen op één testopdracht (zie Afbeelding 2):

- a. In het scherm *Bay voor specimenrek* dubbelklikt u op het geladen rek met het/de specimen(s) in kwestie.  
Het scherm *Specimenrek laden* wordt weergegeven voor het geselecteerde specimenrek.
- b. Op het scherm *Specimentrekken laden* dubbelklikt u op het specimen in kwestie.  
Het scherm *Specimengegevens* verschijnt met de huidige testorders voor het geselecteerde specimen.
- c. Selecteer de desbetreffende testorder in het panel *Testorders*.

d. Selecteer **Verdunning toepassen**.

**Afbeelding 2. Het venster Verdunningsfactor in het scherm Specimengegevens (voorbeeld)**

e. Selecteer **Volbloedconversiefactor**.f. Selecteer **OK** om de volbloedconversiefactormarkering toe te passen op alle geselecteerde testorders.

4. Indien nodig kan de volbloedfactor vóór de start van de verwerking uit testorders worden verwijderd.

Om de volbloedconversiefactor uit een heel rek te verwijderen:

1. In het scherm *Specimenrek* dubbelklikt u op het betreffende rek dat geplaatst is. Het scherm *Specimenrek laden* wordt weergegeven voor het geselecteerde rek.
2. Selecteer **Alles verdunnen**.
3. Deselecteer in het venster *Verdunningsfactor* **Volbloedconversiefactor**.
4. Selecteer **OK**.

Het scherm *Set Dilution Factor for Rack (Stel verdunningsfactor voor rek in)* verschijnt.

5. Selecteer **Ja** om de volbloedconversiefactor uit een heel rek te verwijderen.

Om de testorders voor de volbloedconversiefactorassay te verwijderen:

1. In het scherm *Bay voor specimenrek* dubbelklikt u op het geladen rek met het/de specimen(s) in kwestie.

Het scherm *Specimenrek laden* wordt weergegeven voor het geselecteerde specimenrek.

2. Op het scherm *Specimentrekken laden* dubbelklikt u op het specimen in kwestie.  
Het scherm *Specimengegevens* wordt weergegeven met de huidige testopdrachten voor het geselecteerde specimen.
3. Selecteer de desbetreffende testorder in het panel *Testorders*.
4. Selecteer **Verdunning toepassen**.
5. Deselecteer in het venster *Verdunningsfactor* **Volbloedconversiefactor**.
6. Selecteer **OK** om de volbloedconversiefactor uit de testopdracht te verwijderen.

## Procedurele opmerkingen

### A. Kalibrators en bedieningselementen

1. De qEBV-kalibrators (5 buisjes), de EBV–BKV-buisjes met lage positieve controle (LPC), de EBV-BKV-buisjes met hoge positieve controle (HPC) en de buisjes met negatieve controle voor transplantatie (NC III) kunnen in elke positie in het specimenrek worden geladen en in elke baan van de specimenbay op het Panther Fusion-systeem. Het pipetteren van de kalibrator en controle begint wanneer EBV-specimens in het systeem zijn geladen. Specimens worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
  - a. De kalibrators en controles worden momenteel door het systeem verwerkt.
  - b. Geldige resultaten voor de kalibrators en controles worden in het systeem geregistreerd.
2. Nadat de kalibrator- en controlebuisjes zijn gepipetteerd en zijn verwerkt voor de Panther Fusion EBV Quant-assay, kunnen specimens worden getest. Kalibratieresultaten zijn 60 dagen geldig en controleresultaten zijn maximaal 30 dagen geldig (frequentie geconfigureerd door een beheerder), **tenzij**:
  - a. de resultaten voor de kalibrator ongeldig zijn;
  - b. de controleresultaten ongeldig zijn;
  - c. de laborant om nieuwe controles/kalibrators in Panther Fusion-systeemsoftware vraagt;
3. er een kalibratie vereist is voor elke nieuwe batch assaycartridge die in het Panther Fusion-systeem wordt geladen voordat het wordt gebruikt voor specimenverwerking.
4. Elke kalibrator en elk controlebuisje kan één keer worden gebruikt.



## Kwaliteitscontrole

### Assaykalibratie

Om geldige resultaten te genereren, moet de testkalibratie worden voltooid. De vijf positieve kalibrators worden in drievoud uitgevoerd telkens wanneer een nieuwe partij assaycartridges op het Panther Fusion-systeem wordt geladen. Eenmaal vastgesteld, is de testkalibratie maximaal 60 dagen geldig. Software op het Panther Fusion-systeem waarschuwt de laborant wanneer kalibratie vereist is.

Tijdens de verwerking verifieert de Panther Fusion-software automatisch de geldigheid van de kalibratiecurve. Als de kalibratie niet door de geldigheidscontroles komt, maakt het Panther Fusion-systeem automatisch alle betrokken specimens ongeldig en moet er een nieuwe set testkalibrators worden uitgevoerd voordat eventuele extra specimens worden gepipetteerd.

Standaard verwerkt de assay specimens als onverdund plasma. Om volbloedspecimens te verwerken, moet de verdunning van de volbloedconversiefactor worden geselecteerd in de gebruikersinterface van het instrument.

### Negatieve en positieve controles

Voor geldige resultaten moet een set assaycontroles worden getest. Eén replica van de NC III (transplantatie-negatieve controle), de LPC (laag positieve controle) en de HPC (hoge positieve controle) moet worden getest telkens wanneer een nieuwe batch testcartridges in het Panther Fusion-systeem wordt geladen of wanneer de huidige set geldige controles voor een actieve cartridgepartij is verlopen.

Het Panther Fusion-systeem is geconfigureerd om assaycontroles uit te voeren op een door de beheerder gespecificeerde interval met een maximum van 30 dagen. De software op het Panther Fusion-systeem waarschuwt de gebruiker wanneer er assaycontroles nodig zijn en start geen nieuwe tests voordat de assaycontroles geladen zijn en de verwerking ervan is begonnen.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van assaycontroles automatisch geverifieerd door de software op het Panther Fusion-systeem. Voor het genereren van geldige resultaten, moeten de assaycontroles een aantal geldigheidscontroles doorstaan die door het Panther Fusion-systeem worden uitgevoerd.

Als de assaycontroles alle geldigheidscontroles doorstaan, worden deze geldig beschouwd voor het door de beheerder opgegeven tijdsinterval. Wanneer het tijdsinterval is verstreken, zijn de testcontroles verlopen door het Panther Fusion-systeem en is een nieuwe set testcontroles vereist voordat nieuwe specimens worden gepipetteerd.

Als een van de assaycontroles de geldigheidscontroles niet doorstaat, maakt het Panther Fusion-systeem de betrokken specimens automatisch ongeldig en is een nieuwe set assaycontroles vereist voordat eventuele extra specimens worden gepipetteerd.

## Interne controle

Aan elk specimen wordt tijdens het extractieproces een interne controle toegevoegd. Tijdens de verwerking worden de acceptatiecriteria voor interne controle automatisch door de software van het Panther Fusion System gecontroleerd. Detectie van de interne controle is niet vereist voor specimens die positief zijn voor EBV. De interne controle moet worden gedetecteerd in alle specimens die negatief zijn voor EBV; specimens die niet aan die criteria voldoen, worden als ongeldig gerapporteerd. Elk specimen met een ongeldig resultaat moet opnieuw worden getest.

De software van het Panther Fusion-systeem is ontworpen om processen nauwkeurig te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in deze bijsluiters en de *gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion-systeem*.

## Interpretatie van resultaten

Het Panther Fusion-systeem bepaalt automatisch de concentratie van EBV-DNA voor specimens en controles door de resultaten te vergelijken met een kalibratiecurve. EBV-DNA-concentraties worden gerapporteerd in IE/mL en  $\log_{10}$  IE/mL. De interpretatie van de resultaten wordt gegeven in Tabel 2 en Tabel 3.

Tabel 2: Interpretatie van plasmaresultaten

Gerapporteerde EBV Quant Assay-resultaten		
IE/mL	Log <sub>10</sub> Waarde	Interpretatie
Niet gedetecteerd	Niet gedetecteerd	EBV-DNA niet gedetecteerd.
< 120 gedetecteerd	< 2,08	EBV-DNA wordt gedetecteerd, maar op een niveau onder de ondergrens van kwantificering (LLoQ).
120 t/m 1.50E09	2,08 t/m 9,18	De EBV-DNA-concentratie ligt binnen het kwantitatieve bereik tussen LLoQ en ULoQ IE/mL.
> 1.50E09	> 9,18	De EBV-DNA-concentratie ligt boven de bovengrens van kwantificering (ULoQ).
Ongeldige <sup>a</sup>	Ongeldige <sup>a</sup>	Er is een fout opgetreden bij het genereren van het resultaat. Het specimen moet opnieuw worden getest.

<sup>a</sup> Ongeldige resultaten worden weergegeven in blauwe letters.

Tabel 3: Interpretatie van volbloedresultaten

Gerapporteerde EBV Quant Assay-resultaten		
IE/mL	Log <sub>10</sub> Waarde	Interpretatie
Niet gedetecteerd	Niet gedetecteerd	EBV-DNA niet gedetecteerd.
< 350 gedetecteerd	< 2,54	EBV-DNA wordt gedetecteerd, maar op een niveau onder de ondergrens van kwantificering (LLoQ).
350 t/m 6.0E09	2,54 t/m 9,78	De EBV-DNA-concentratie ligt binnen het kwantitatieve bereik tussen LLoQ en ULoQ IE/mL.
> 6.0E09	> 9,78	De EBV-DNA-concentratie ligt boven de bovengrens van kwantificering (ULoQ).
Ongeldige <sup>a</sup>	Ongeldige <sup>a</sup>	Er is een fout opgetreden bij het genereren van het resultaat. Het specimen moet opnieuw worden getest.

<sup>a</sup> Ongeldige resultaten worden weergegeven in blauwe letters.

## Beperkingen

- A. Het gebruik van deze test is beperkt tot personeel dat getraind is in deze procedure. Het niet naleven van deze instructies kan tot foutieve resultaten leiden.
- B. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van een adequate afname, transport, opslag en verwerking van specimens.
- C. Vervuiling kan worden voorkomen door naleving van goede laboratoriumpraktijken en de procedures die in deze bijsluiters staan aangegeven.
- D. Hoewel zeldzaam, kunnen mutaties in de sterk geconserveerde regio's van het virale genoom die door de primers en/of sondes in de Panther Fusion EBV Quant-assay worden gedekt, ertoe leiden dat het virus onvoldoende wordt gekwantificeerd of niet wordt gedetecteerd.
- E. Negatieve resultaten sluiten EBV-infecties niet uit en mogen niet worden gebruikt als enige basis voor behandeling of andere managementbeslissingen.
- F. Een positief resultaat geeft de detectie van nucleïnezuur van het betreffende virus aan. Er kan nucleïnezuur aanwezig blijven zelfs nadat het virus niet langer levensvatbaar is.

## Prestaties

### Detectielimiet met behulp van de eerste internationale norm van de WHO

De detectielimiet (LoD) van de test wordt gedefinieerd als de concentratie van EBV-DNA die wordt gedetecteerd met een waarschijnlijkheid van 95% of meer volgens CLSI EP17-A2.<sup>8</sup>

### Detectielimiet met behulp van WHO-normen in plasma

De LoD werd bepaald door het testen van panels van de eerste internationale norm van de WHO (NIBSC-code 09/260) voor EBV verdund in EBV-negatief humaan plasma. Twintig (20) replica's van elke verdunning werden getest met elk van drie batches reagentia voor in totaal 60 replica's per verdunning. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor de voorspelde detectielimieten. De LoD-waarden weergegeven in Tabel 4 zijn de resultaten van de batch reagentia met de hoogste voorspelde detectielimiet. De LoD voor de Panther Fusion EBV Quant-assay met behulp van de eerste internationale norm van de WHO is 54,1 IE/mL voor plasma.

Tabel 4: Detectielimiet voor plasma met behulp van de eerste internationale norm van de WHO voor EBV

Voorspelde detectielimiet	Concentratie (IE/mL)
10%	1,5
20%	2,4
30%	3,6
40%	5,1
50%	7,2
60%	10,2
70%	14,8
80%	22,4
90%	38,0
95%	54,1

### Detectielimiet met behulp van WHO-normen in volbloed

De LoD werd bepaald door het testen van panels van de 1st WHO International Standard for EBV verdund in EBV-negatief volbloed. Twintig (20) replica's van elke verdunning werden getest met elk van drie batches reagentia voor in totaal 60 replica's per verdunning. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor de voorspelde detectielimieten. De LoD-waarden weergegeven in Tabel 5 zijn de resultaten van de batch reagentia met de hoogste voorspelde detectielimiet. De LoD voor de Panther Fusion EBV Quant-assay met behulp van de eerste internationale norm van de WHO is 200,9 IE/mL voor volbloed.

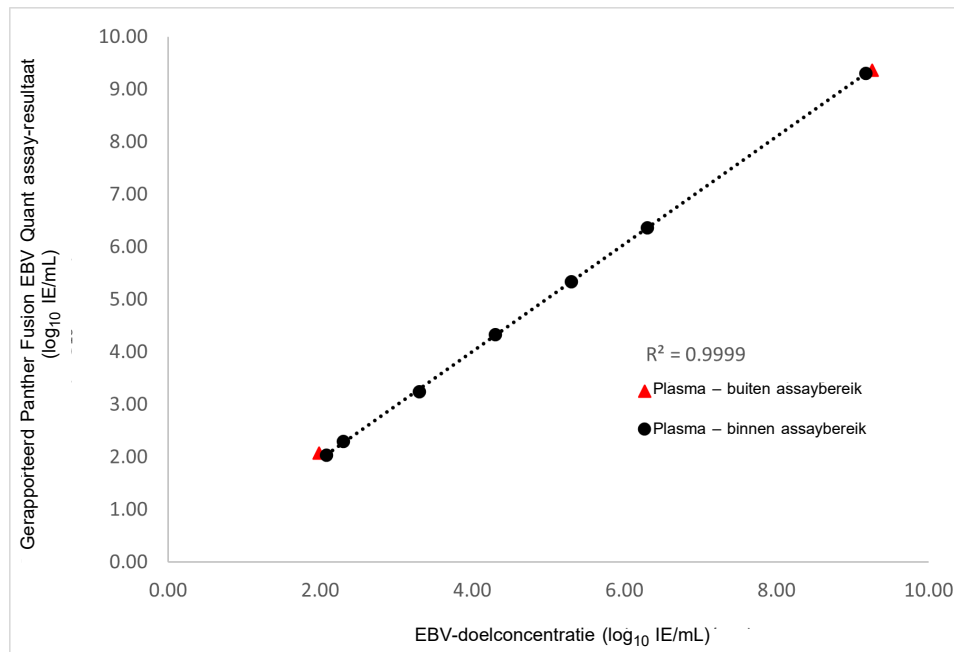
Tabel 5: Detectielimiet voor volbloed volgens de eerste internationale norm van de WHO voor EBV

Voorspelde detectielimiet	Concentratie (IE/mL)
10%	4,9
20%	6,7
30%	9,1
40%	12,6
50%	17,8
60%	26,1
70%	40,2
80%	67,0
90%	129,6
95%	200,9

## Lineair bereik

### Lineair bereik in plasma

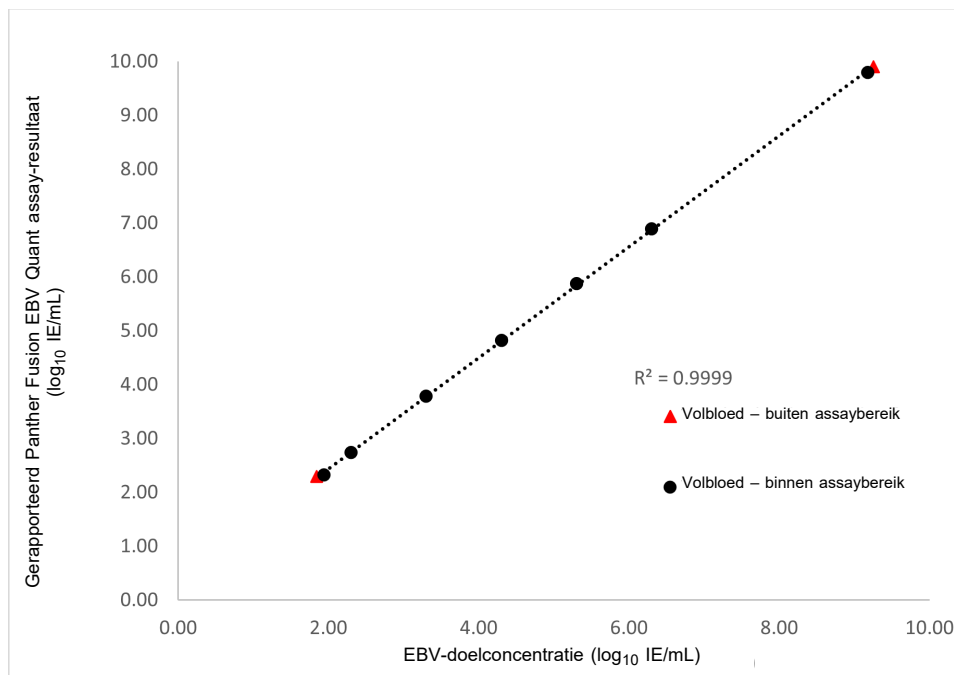
Het lineaire bereik werd vastgesteld door het testen van panels van EBV verdund in EBV-negatief humaan plasma volgens CLSI EP06-A.<sup>9</sup> Panels varieerden in concentratie van 1,98 log IE/mL t/m 9,26 log IE/mL. De Panther Fusion EBV Quant-assay toonde lineariteit over het geteste bereik. De bovengrens van kwantificering (ULoQ) van de test is 9,18 log IE/mL, zoals weergegeven in Afbeelding 3.



**Afbeelding 3. Lineariteit in plasma**

### Lineair bereik in volbloed

Het lineaire bereik werd vastgesteld door het testen van panels van EBV verdund in EBV-negatief menselijk volbloed volgens CLSI EP06-A.<sup>9</sup> Panels varieerden in concentratie van 2,45 log IE/mL t/m 9,86 log IE/mL. De Panther Fusion EBV Quant-assay toonde lineariteit over het geteste bereik. De bovengrens van kwantificering (ULoQ) van de test is 9,78 log IE/mL, zoals weergegeven in Afbeelding 4.



**Afbeelding 4. Lineariteit in volbloed**

### Ondergrens van kwantificering met behulp van de eerste internationale norm van de WHO

De ondergrens van kwantificering (LLoQ) wordt gedefinieerd als de laagste concentratie waarbij EBV betrouwbaar wordt gekwantificeerd, volgens CLSI EP17-A2.<sup>8</sup> De totale fout werd geschat met behulp van het Westgard-model: Totale fout (TE) = |bias| + 2 sd. Om precisie en nauwkeurigheid van de metingen te garanderen, werd de totale fout van de Panther Fusion EBV Quant-assay ingesteld op 1,2 log IE/mL, met een voorkeur voor de waarheid en een SD die respectievelijk ≤ 0,5 log IE/mL en ≤ 0,35 log IE/mL moet zijn.

### Ondergrens van kwantificering met behulp van de WHO-standaard in plasma

De LLoQ werd bepaald door het testen van panels van de eerste internationale norm van de WHO (NIBSC-code 09/260) voor EBV verdund in EBV-negatief humaan plasma. Twintig (20) replica's van elke verdunning werden getest met elk van drie reagensbatches voor in totaal 60 replica's per verdunning. De LLoQ-resultaten voor de drie reagensbatches staan weergegeven in Tabel 6. De LLoQ die wordt gegenereerd met de eerste internationale norm van de WHO voor EBV in plasma is 120 IE/mL (2,08 log IE/mL).

Tabel 6: Bepaling van LLoQ met behulp van de eerste internationale WHO-standaard voor EBV verdund in plasma

Reagensbatch	N	N gedetecteerd	Doelconcentratie (log IE/mL)	EBV Quant-assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	Bias  (log IE/mL)	Berekende TE (log IE/mL)
1	20	20	1,93	2,06	0,21	0,2	0,6
	20	20	2,08	2,33	0,21	0,3	0,7
	20	20	2,18	2,45	0,13	0,3	0,5
	20	20	2,26	2,44	0,15	0,2	0,5
2	20	20	1,93	1,61	0,30	0,3	0,9
	20	20	2,08	1,79	0,23	0,3	0,8
	20	20	2,18	2,00	0,18	0,2	0,6
	20	20	2,26	2,09	0,17	0,2	0,5
3	20	20	1,93	1,75	0,20	0,2	0,6
	20	20	2,08	1,88	0,25	0,2	0,7
	20	20	2,18	2,09	0,12	0,1	0,4
	20	20	2,26	2,04	0,15	0,2	0,5

SD=standaarddeviatie  $\leq 0,35$  (log IE/mL).

|Bias|=bias voor de waarheid  $\leq 0,5$  (log IE/mL).

De verdunning die bij de LLoQ-concentratie hoort en op elke reagensbatch getest is, wordt in het grijs benadrukt weergegeven.

### Ondergrens van kwantificering met behulp van de WHO-standaard in volbloed

De LLoQ werd bepaald door het testen van panels van de eerste internationale norm van de WHO (NIBSC-code 09/260) voor EBV verdund in EBV-negatief menselijk volbloed. Twintig (20) replica's van elke verdunning werden getest met elk van drie batches reagentia voor in totaal 60 replica's per verdunning. De LLoQ-resultaten voor de drie batches reagentia staan weergegeven in Tabel 7. De LLoQ die wordt gegenereerd met de eerste internationale norm van de WHO voor EBV in volbloed is 350 IE/mL (2,54 log IE/mL).



Tabel 7: Bepaling van LLoQ met behulp van de eerste internationale WHO-standaard voor EBV verdund in volbloed

Reagensbatch	N	N gedetecteerd	Doelconcentratie (log IE/mL)	EBV Quant-			
				assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	Bias  (log IE/mL)	Berekende TE (log IE/mL)
1	20	18	2,40	2,48	0,30	0,3	0,9
	20	20	2,48	2,40	0,33	0,3	0,9
	20	20	2,54	2,50	0,30	0,2	0,8
	20	20	2,62	2,51	0,34	0,3	1,0
2	20	19	2,40	1,94	0,39	0,5	1,2
	20	20	2,48	1,94	0,36	0,5	1,3
	20	20	2,54	2,06	0,26	0,5	1,0
	20	19	2,62	2,16	0,19	0,5	0,9
3	20	20	2,40	1,84	0,48	0,60	1,5
	20	19	2,48	1,90	0,32	0,60	1,2
	20	20	2,54	2,12	0,26	0,40	0,9
	20	20	2,62	2,25	0,29	0,40	1,0

SD=standaarddeviatie  $\leq 0,35$  (log IE/mL).|Bias|=bias voor de waarheid  $\leq 0,5$  (log IE/mL).

De verdunning die bij de LLoQ-concentratie hoort en op elke reagensbatch getest is, wordt in het grijs benadrukt weergegeven.

## Bevestiging van de ondergrens van kwantificering van EBV-genotypen

### Ondergrens van kwantificering van genotypen in plasma

De LLoQ die werd vastgesteld met behulp van de WHO-standaard, werd beoordeeld door het testen van EBV-genotypen 1 (Raji, Akata en B95-8) en 2 (AG876, P3H1 en Jijoye) met een piek van 3x de LLoQ in EBV-negatief humaan plasma. Drie replica's van elk panellid werden getest met één reagensbatch. De resultaten staan vermeld in Tabel 8.

Tabel 8: Bevestiging van LLoQ over genotypen in plasma

Isoleren (genotype)	N	N gedetecteerd	Doelconcentratie (log IE/mL)	EBV Quant-		
				assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	Bias  (log IE/mL)
Raji (genotype 1)	3	3	2,56	2,84	0,12	0,3
Akata (genotype 1)	3	3	2,56	2,95	0,11	0,4
B95-8 (genotype 1)	3	3	2,56	2,59	0,08	0,1
AG876 (genotype 2)	3	3	2,56	2,72	0,23	0,2
P3H1 (genotype 2)	3	3	2,56	2,91	0,07	0,4
Jijoye (genotype 2)	3	3	2,56	2,75	0,16	0,2

SD=standaarddeviatie.

### Ondergrens van kwantificering van genotypen in volbloed

De LLoQ die werd vastgesteld met behulp van de WHO-standaard werd beoordeeld door het testen van EBV-genotypen 1 (isolaten Raji, Akata en B95-8) en genotype 2 (isolaten AG876, P3H1 en Jijoye) met een piek van 3x de LLoQ in EBV-negatief menselijk volbloed. Drie replica's van elk panellid werden getest met één reagensbatch. De resultaten staan vermeld in Tabel 9.

Tabel 9: Bevestiging van LLoQ over genotypen in volbloed

Isoleren (genotype)	N	N gedetecteerd	Doelconcentratie (log IE/mL)	EBV Quant-assay (log IE/mL)	SD (log IE/mL)	Bias  (log IE/mL)
Raji (genotype 1)	3	3	3,02	3,12	0,06	0,1
Akata (genotype 1)	3	3	3,02	2,95	0,05	0,1
B95-8 (genotype 1)	3	3	3,02	3,09	0,11	0,1
AG876 (genotype 2)	3	3	3,02	3,14	0,08	0,1
P3H1 (genotype 2)	3	3	3,02	3,45	0,10	0,4
Jijoye (genotype 2)	3	3	3,02	3,01	0,24	0,2

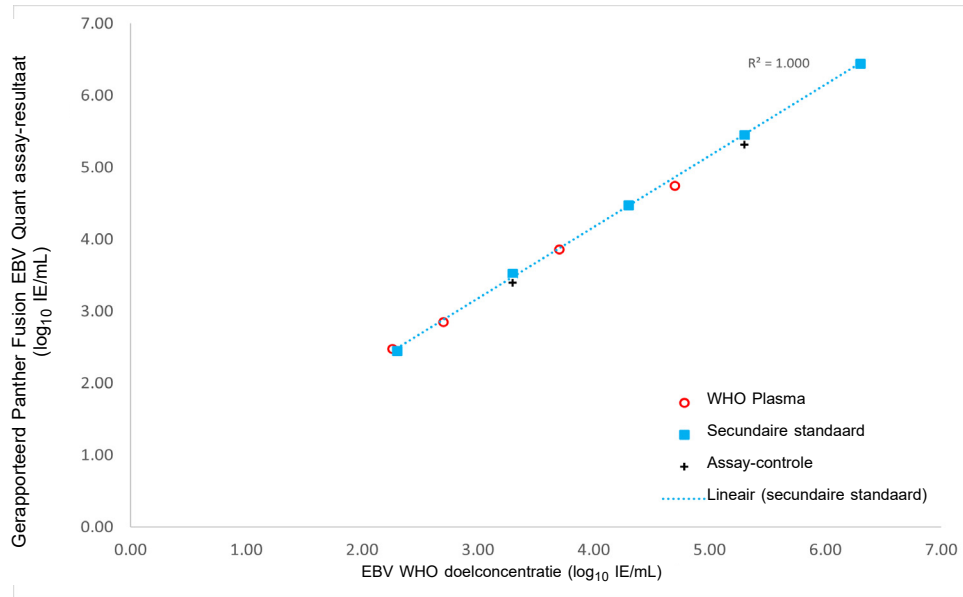
SD=standaarddeviatie.

### Traceerbaarheid tot de eerste internationale standaard van de WHO

Een reeks secundaire standaarden met bekende concentraties werden gebruikt tijdens de productontwikkeling en productproductie om traceerbaarheid naar de WHO-standaard vast te stellen. De EBV eerste WHO-standaard werd verdund en getest samen met de secundaire standaarden, evenals testcontroles en kalibrators die werden gebruikt in de Panther Fusion EBV Quant-assay om de traceerbaarheid te evalueren volgens CLSI EP32-R.<sup>10</sup> De secundaire standaarden varieerden in concentratie van 2,30 t/m 6,30 log<sub>10</sub> IE/mL.

### Traceerbaarheid naar de WHO-standaard met behulp van plasma

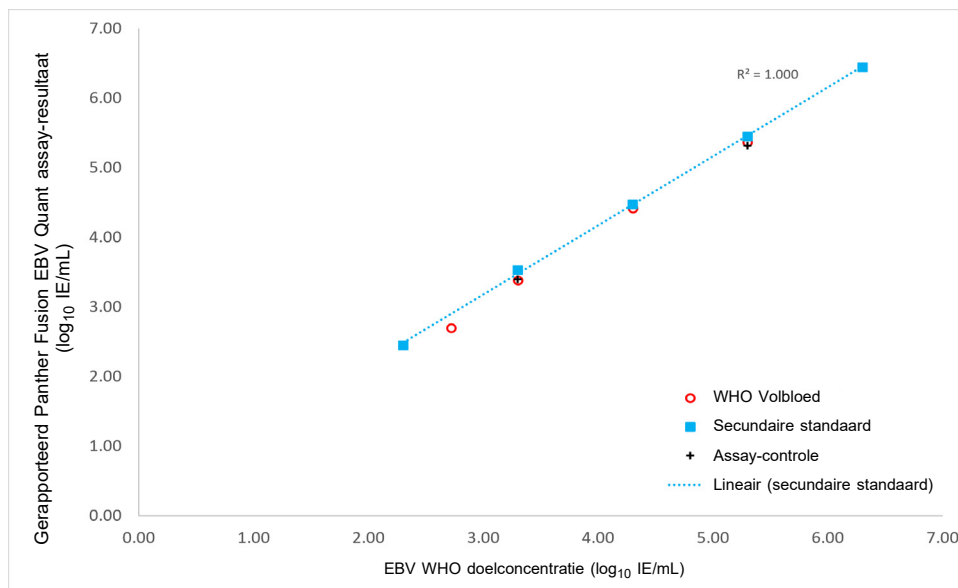
De geteste concentraties voor de EBV eerste WHO-standaard lagen tussen 2,26 en 4,70 log<sub>10</sub> IE/ mL. De WHO-plasmapanelen, secundaire standaarden, testcontroles en testkalibrators herstelden zoals verwacht over het lineaire bereik van de test, zoals te zien is op Afbeelding 5.



**Afbeelding 5. Traceerbaarheid tussen de EBV eerste WHO-standaard doelconcentraties en gerapporteerde concentraties in de Panther Fusion EBV Quant-assay (WHO-standaard verdund in plasma)**

#### Traceerbaarheid naar de WHO-standaard met volbloed

De geteste concentraties voor de EBV eerste WHO-standaard in volbloed lagen tussen 2,72 en 5,30 log<sub>10</sub> IE/mL. De WHO-panels voor volbloed, secundaire standaarden, testcontroles en testkalibrators herstelden zoals verwacht over het lineaire bereik van de test, zoals te zien is op Afbeelding 6.



**Afbeelding 6. Traceerbaarheid tussen de EBV eerste WHO-standaard doelconcentraties en gerapporteerde concentraties in de Panther Fusion EBV Quant-assay (WHO-standaard verdund in volbloed)**

## Binnen Laboratoriumprecisie

Om binnen laboratoriumprecisie te beoordelen, werd een 3-lid positief panel gemaakt door EBV-DNA te verdunnen in EBV-negatief volbloed. Het positieve panel en een negatief bloedsample werden gedurende 6 niet-openvolgende testdagen getest door 2 laboranten met behulp van 3 reagensbatches op 3 Panther Fusion-systemen. Elke laborant voerde 2 runs per dag uit en elk panellid werd in elke run in drievoud getest. Het onderzoek is opgezet en geanalyseerd volgens de aanbevelingen van CLSI EP-05-A3.<sup>11</sup>

Tabel 10 toont de reproduceerbaarheid van testresultaten (in log IE/mL) voor het positieve panel tussen instrumenten, laboranten, cartridgebatches, runs, dagen, binnen runs en algemeen. De totale variabiliteit was voornamelijk het gevolg van de variabiliteit tussen batches. Alle replica's van de negatieve sample waren negatief.

Tabel 10: *Reproduceerbaarheid van de Panther Fusion EBV Quant-assay in volbloed*

N	Gemiddelde concentratie (log IE/mL)	Tussen batches	Tussen instrumenten	Tussen laboranten	Tussen Dag	Tussen Run	Tussen Run	Totaal
		SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
52	2,96	0,17	0,04	0,05	0,06	0,12	0,13	0,20
52	4,00	0,15	0,02	0,04	0,04	0,10	0,06	0,15
52	5,03	0,15	0,01	0,05	0,03	0,13	0,04	0,13

SD=standaarddeviatie.

Van de N=54 waren twee (2) replica's van elk panel ongeldig en niet opnieuw getest vanwege onvoldoende volume.

## Potentieel storende stoffen

De gevoeligheid van de Panther Fusion EBV Quant-assay voor interferentie door verhoogde niveaus van endogene stoffen, anticoagulantia en geneesmiddelen die vaak worden voorgeschreven aan transplantatiepatiënten, werd geëvalueerd in EBV-negatieve matrices in aanwezigheid of afwezigheid van 2,56 log IE/mL en 3,02 log IE/mL EBV in respectievelijk plasma en volbloed. De testconcentraties voor elk van de storende stoffen zijn geselecteerd op basis van beschikbare literatuurreferenties en richtlijnen van CLSI EP07<sup>12</sup> en EP37.<sup>13</sup>

Er werd geen verstoring in de nauwkeurigheid van de kwantificatie van de assay waargenomen in plasma of in volbloedspecimens in aanwezigheid van potentieel storende endogene stoffen vermeld in Tabel 11.

Tabel 11: *Endogene stoffen*

Mogelijk storende stof	Aantal replica's	Geteste concentratie
Albumine	3	375 mg/dL
Geconjugeerd bilirubine	3	40 mg/dL
Hemoglobine	3	1000 mg/dL
Heparine	3	0,66 mg/dL
Menselijk genomisch DNA	3	0,2 mg/mL
Triglyceriden	3	3,45 mg/dL
Ongeconjugeerd bilirubine	3	0,40 mg/dL

Er werd geen verstoring in de nauwkeurigheid van de kwantificatie van de assay waargenomen in aanwezigheid van de exogene stoffen vermeld in Tabel 12.

Tabel 12: Exogene stoffen

Mogelijk storende stof	Aantal replica's	Geteste concentratie
Aciclovir	3	6,6 mg/dL
Azathioprine	3	0,258 mg/dL
Cefotetan	3	71,1 mg/dL
Cidofovi	3	12,4 mg/dL
Clavulanaatkalium	3	1,47 mg/mL
Cyclosporine	3	0,180 mg/dL
EDTA	3	0,099 mg/dL
Everolimus	3	0,0183 mg/dL
Fluconazol	3	2,55 mg/dL
Foscarnet	3	108 mg/dL
Ganciclovir	3	3,96 mg/dL
Letermovir	3	3,9 mg/dL
Mycofenolaatmofetil	3	18,1 mg/dL
Mycofenolzuur	3	18,1 mg/dL
Piperacilline	3	110 mg/dL
Prednison	3	0,0099 mg/dL
Sirolimus	3	0,0213 mg/dL
Natriumcitraat	3	3200 mg/dL
Sulfamethoxazol	3	35,7 mg/dL
Tacrolimus	3	0,0144 mg/dL
Tazobactam-natrium	3	10,2 mg/dL
Tenofoviridisoproxilfumaraat	3	0,0978 mg/dL
Ticarcillinedinatrium	3	151 mg/dL
Trimethoprim	3	4,2 mg/dL
Valaciclovir	3	3,83 mg/dL
Valganciclovir	3	4,83 mg/dL
Vancomycine	3	12 mg/dL

## Analytische specificiteit

Potentiële kruisreactiviteit met de pathogenen vermeld in Tabel 13 werd geëvalueerd in EBV-negatieve matrices in aanwezigheid of afwezigheid van respectievelijk 2,56 log IE/mL en 3,02 log IE/mL EBV in plasma en volbloed. Pathogenen werden getest in de hoogst beschikbare concentratie. Er werd geen kruisreactiviteit of verstoring in de nauwkeurigheid van de kwantificatie waargenomen.

Tabel 13: Pathogenen getest op analytische specificiteit

Micro-organisme/pathogeen	Concentratie	Micro-organisme/pathogeen	Concentratie
ADV-4	1,00E+04 TCID <sub>50</sub> /mL	Humaan para-influenzavirus	1,00E+05 IE/mL
<i>Aspergillus niger</i>	1,00E+06 CFU/mL	Influenza A	1,00E+05 IE/mL
BKV	5,00E+06 cp/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06 cp/mL
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,00E+06 IFU/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 CCU/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1,00E+06 cp/mL	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1,00E+06 cp/mL
CMV	1,00E+05 cp/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,00E+06 CFU/mL	Rhinovirus	1,00E+06 cp/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Salmonella enterica</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 CFU/mL
HBV	1,00E+05 IE/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 CFU/mL
HCV	1,00E+04 IE/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,00E+06 CFU/mL
HIV-1	1,00E+05 IE/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/mL
HPV-18 (geïnfecteerde HeLa-cellen)	1,00E+05 cellen/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 CFU/mL
Menselijk herpesvirus 6	1,00E+05 cp/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,00E+05 Trofozoïeten/mL
Menselijk herpesvirus 7	1,00E+03 TCID <sub>50</sub> /mL	Varicella-zostervirus	1,00E+05 cp/mL
Menselijk herpesvirus 8	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,00E+06 CFU/mL
Humaan metapneumovirus	1,00E+03 IE/mL	Zika-virus	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /mL

CCU/mL=koloniewisseleenheden/mL.

KVE/mL = kolonievormende eenheden per mL.

cp/mL=exemplaren per mL.

IFU/mL = insluitvormende eenheden per mL.

IE/mL = Internationale eenheden per mL.

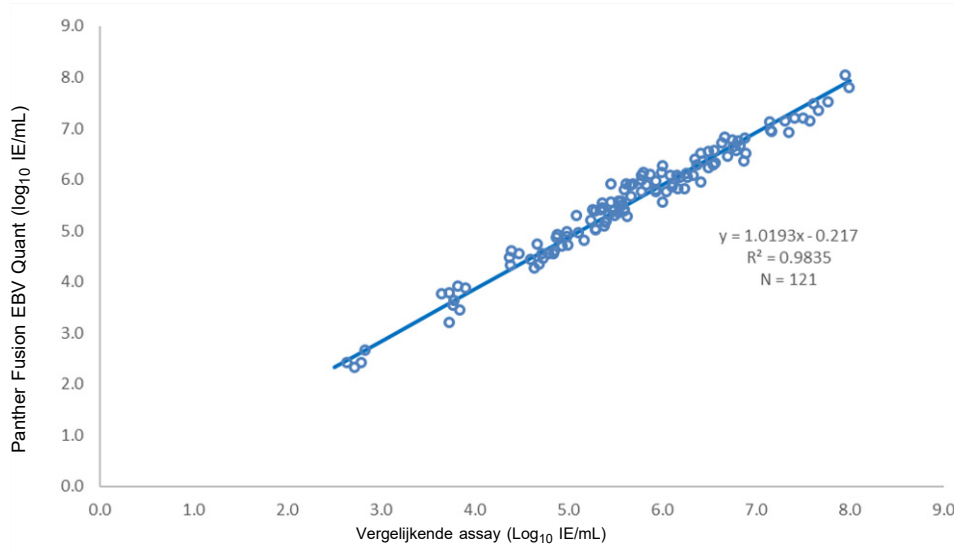
TCID<sub>50</sub>/mL = infectieuze dosiseenheden voor weefselkweek per mL.

## Correlatie van methoden

Dit onderzoek is opgezet conform CLSI EP09c.<sup>14</sup>

### Correlatie plasmamethode

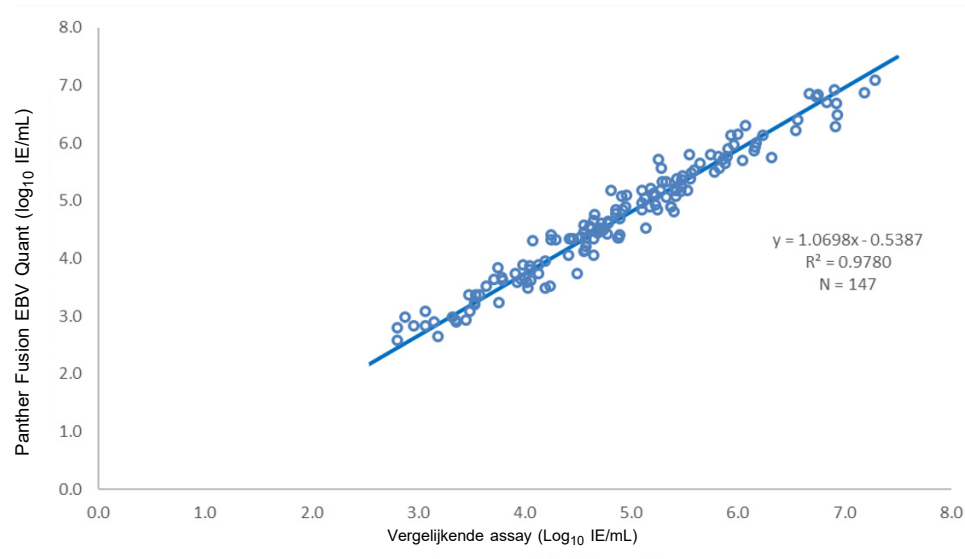
De prestaties van de Panther Fusion EBV Quant-assay werden beoordeeld aan de hand van een vergelijkingsassay door retrospectief verzamelde specimens en geconstrueerde specimens te testen die het gehele lineaire bereik bestrijken. Er werden in totaal 121 specimens gebruikt binnen het lineaire bereik dat beide assays gemeen hebben voor de Deming-regressie, zoals weergegeven in Afbeelding 7.



**Afbeelding 7. Correlatie tussen EBV-virale belasting in de Panther Fusion EBV Quant-assay en een vergelijkende assay voor het testen van plasmaspecimens**

### Correlatie van volbloedmethode

De prestaties van de Panther Fusion EBV Quant-assay werden beoordeeld aan de hand van een vergelijkingsassay door retrospectief verzamelde specimens en geconstrueerde specimens te testen die het gehele lineaire bereik bestrijken. Er werden in totaal 147 specimens gebruikt binnen het lineaire bereik dat beide assays gemeen hebben voor de Deming-regressie, zoals weergegeven in Afbeelding 8.



**Afbeelding 8. Correlatie tussen EBV-virale belasting in de Panther Fusion EBV Quant-assay en een vergelijkende assay voor het testen van volbloedspecimens**

### Overdracht/kruisbesmetting

De overdracht werd beoordeeld met behulp van EBV-spiked STM-specimens met hoge titer ( $1,5E+09$  IE/mL) afgewisseld tussen EBV-negatieve specimens in een dambordpatroon. Er werd getest over 5 runs. Het algehele vermengingspercentage was 0,67% (1/150).



## Literatuur

1. Tzellos S, Farrell PJ. 2012. Epstein-Barr Virus Sequence Variation—Biology and Disease. *Pathogens*. 1(2):156–174. doi.org/10.3390/pathogens1020156
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Epstein-Barr Virus and Infectious Mononucleosis. (2016). <https://www.cdc.gov/epstein-barr/about-mono.html>
3. Kimura H, Kwong Y-L. 2019. EBV Viral Loads in Diagnosis, Monitoring, and Response Assessment. *Front. Oncol.* 9:62.
4. Nijland, ML, Kersten MJ, Pals ST, Bemelman FJ, ten Berge JJM. 2016 *Transplantation Direct* 2016;2: e48 doi: 10.1097/TXD.0000000000000557
5. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al , on behalf of the Sixth European Conference on Infections in Leukemia, a joint venture of the Infectious Diseases Working Party of the European Society of Blood and Marrow Transplantation (EBMT-IDWP), the Infectious Diseases Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IDG), the International Immunocompromised Host Society (IHS) and the European Leukemia Net (ELN). 2016 Management of Epstein-Barr Virus Infections and Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders in Patients after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) Guidelines. *Haematologica*. 107(7):803-811. doi:10.3324/haematol.2016.144428
6. 1st WHO International Standard for Epstein-Barr Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 09/260, version 4.0).
7. Clinical & Laboratory Standards Institute. Document M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI Web site <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (April 4, 2022)
8. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guidelines – Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, PA.
9. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guidelines. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
10. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
11. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2014. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-03. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
12. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Interference Testing in Clinical Chemistry – Third Edition. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI document EP37, 1st Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
14. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI document EP09c, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

## Contactgegevens



Diagenode SA  
3, Rue du Bois Saint Jean  
4102 Seraing, België



Verantwoordelijke persoon in het VK:  
Hologic Ltd.  
Oaks Business Park, Crewe Road  
Wythenshawe, Manchester, M23 9HZ  
Verenigd Koninkrijk

Adres Australische opdrachtgever:  
Hologic (Australië & Nieuw-Zeeland) Pty Ltd  
Macquarie Park, NSW 2113

Ga voor landspecifieke technische ondersteuning en klantenservice, e-mailadres en telefoonnummer naar <http://www.hologic.com/support>.

Hologic, Aptima, Panther en Panther Fusion en bijbehorende logo's zijn handelsmerken en/of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of haar dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen.

Quasar is een geregistreerd handelsmerk en is in licentie gegeven door Biosearch Technologies, Inc.

Alle andere handelsmerken in deze bijsluiters zijn eigendom van de respectieve eigenaars ervan.

Dit product is mogelijk beschermd door een of meer Amerikaanse octrooien vermeld op [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

©2022 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-26019-1501 Versie 001  
2022-05