

Real Time PCR Detection Kit

HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay
for BD MAX™ System
Brugsanvisning

CE IVD
2797

Denne brugsanvisning gælder for følgende referencer:

PRODUKT	REFERENCE
VIASURE HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System	444222

Tabel A 1. Reference til produktet, der skal bruges sammen med BD MAX™ System.

EN For download IFUS from other languages, please enter in **certest.es/viasure/labeling**. Once you be there, please following the instructions for access to the language that you need. If you need additional information, please contact: viasure@certest.es.

BG За да изтеглите IFUS на други езици, моля, отидете на **certest.es/viasure/labeling**. След това следвайте инструкциите, за да получите достъп до необходимия ви език. Ако имате нужда от допълнителна информация, моля, свържете се с: viasure@certest.es.

CS Chcete-li si stáhnout IFUS v jiných jazycích, přejděte na stránku **certest.es/viasure/labeling**. Jakmile se tam dostanete, postupujte podle pokynů pro přístup k požadovanému jazyku. Pokud potřebujete další informace, kontaktujte prosím: viasure@certest.es.

DA Hvis du vil downloade IFUS på andre sprog, kan du gå til **certest.es/viasure/labeling**. Når du er der, skal du følge instruktionerne for at få adgang til det sprog, du har brug for. Hvis du har brug for yderligere oplysninger, kan du kontakte: viasure@certest.es.

DE Um den IFUS in anderen Sprachen herunterzuladen, gehen Sie bitte zu **certest.es/viasure/labeling**. Wenn Sie dort sind, folgen Sie den Anweisungen, um auf die gewünschte Sprache zuzugreifen. Wenn Sie weitere Informationen benötigen, wenden Sie sich an: viasure@certest.es.

EL Για να κατεβάσετε το IFUS σε άλλες γλώσσες, μεταβείτε στη διεύθυνση **certest.es/viasure/labeling**. Μόλις φτάσετε εκεί, ακολουθήστε τις οδηγίες για να αποκτήσετε πρόσβαση στη γλώσσα που χρειάζεστε. Εάν χρειάζεστε πρόσθετες πληροφορίες, επικοινωνήστε με τη διεύθυνση: viasure@certest.es.

ES Para descargar las IFUS en otros idiomas, por favor, entre en **certest.es/viasure/labeling**. Una vez esté allí, siga las instrucciones para acceder al idioma que necesite. Si necesita información adicional, contacte: viasure@certest.es.

ET IFUSi allalaadimiseks teistes keeltes külastage **certest.es/viasure/labeling**. Kui olete seal, järgige juhiseid, et saada juurdepääs vajalikule keelele. Kui vajate lisateavet, võtke palun ühendust: viasure@certest.es.

FR Pour télécharger l'IFUS dans d'autres langues, veuillez vous rendre sur **certest.es/viasure/labeling**. Une fois sur place, suivez les instructions pour accéder à la langue dont vous avez besoin. Si vous avez besoin d'informations supplémentaires, contactez: viasure@certest.es.

HR Za preuzimanje IFUS-a s drugih jezika unesite **certest.es/viasure/labeling**. Kada ste tamo, slijedite upute za pristup jeziku koji vam je potreban. Ako trebate dodatne informacije, obratite se na: viasure@certest.es.

HU Az IFUS más nyelveken történő letöltéséhez kérjük, látogasson el a **certest.es/viasure/labeling** weboldalra. Ha ott van, kövesse az utasításokat a kívánt nyelv eléréséhez. Ha további információra van szüksége, kérjük, forduljon a következő címre: viasure@certest.es.

IT Per scaricare l'IFUS in altre lingue, vai su **certest.es/viasure/labeling**. Una volta che sei lì, segui le istruzioni per accedere alla lingua di cui hai bisogno. Se hai bisogno di ulteriori informazioni, contatta: viasure@certest.es.

LT Norėdami atsisiųsti IFUS kitomis kalbomis, eikite į **certest.es/viasure/labeling**. Ten atlikite nurodymus, kad pasiektumėte reikiamą kalbą. Jei reikia papildomos informacijos, kreipkitės adresu: viasure@certest.es.

LV Lai lejupielādētu IFUS citās valodās, lūdzu, apmeklējiet **certest.es/viasure/labeling**. Pēc tam izpildiet norādījumus, lai piekļūtu vajadzīgajai valodai. Ja nepieciešama papildu informācija, lūdzu, sazinieties ar: viasure@certest.es.

NB For å laste ned IFUS fra andre språk, gå inn på certest.es/viasure/labeling. Når du er der, kan du følge instruksjonene for å få tilgang til det språket du trenger. Hvis du trenger ytterligere informasjon, kan du kontakte: viasure@certest.es.

PT Para baixar o IFUS em outros idiomas europeus, acesse **certest.es/viasure/labeling**. Uma vez lá, siga as instruções para acessar o idioma que você precisa. Se você precisar de informações adicionais, entre em contato: viasure@certest.es.

RO Pentru a descărca IFUS în alte limbi, vă rugăm să accesați **certest.es/viasure/labeling**. Accesat site-ul, urmați instrucțiunile pentru a selecta limba necesară. Pentru informații suplimentare, contactați: viasure@certest.es.

SV För att ladda ner IFUS från andra språk, vänligen gå in på **certest.es/viasure/labeling**. När du är där följer du instruktionerna för att få tillgång till det språk du behöver. Om du behöver ytterligare information, vänligen kontakta: viasure@certest.es.

SK Ak si chcete stiahnuť IFUS v iných jazykoch, prejdite na stránku **certest.es/viasure/labeling**. Keď sa tam dostanete, postupujte podľa pokynov a získajte prístup k požadovanému jazyku. Ak potrebujete ďalšie informácie, obráťte sa na: viasure@certest.es.

FI Lataa suomeksi turvallinen käyttöopas osoitteesta **certest.es/viasure/labeling**. Kun olet siellä, seuraa ohjeita. Jos tarvitset lisätietoja, ota yhteyttä: viasure@certest.es.

Consult **certest.es/viasure/labeling** , hvis dit sprog ikke er på listen. Kontakt viasure@certest.es, hvis dit sprog ikke findes på hjemmesiden.

Bemærk: Brugeren skal underrette fabrikanten og den kompetente myndighed i landet, hvor den pågældende er bosiddende som bruger og/eller patient, om enhver alvorlig hændelse i forbindelse med produktet.

Indhold

1. Erklæret formål	6
2. Oversigt og forklaring.....	6
3. Procedurens princip	7
4. Leverede reagenser.....	8
5. Reagenser og udstyr, der skal anskaffes af brugeren.....	8
6. Betingelser for transport, opbevaring og brug	9
7. Forholdsregler for brugere.....	9
8. Analysemetode.....	11
8.1. Indsamling, transport og opbevaring af prøver	11
8.2. Klargøring af prøver og DNA-ekstraktion	13
8.3. PCR-protokol	13
8.3.1. Oprettelse af et PCR-testprogram for VIASURE <i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System.....	13
8.3.2. Opsætning af BD MAX™ prøvestativ	17
8.3.3. BD MAX™ Instrumentopsætning	18
8.3.4. Resultatrapport for BD MAX™.....	18
9. Tolkning af resultater	19
10. Begrænsninger i testen.....	21
11. Kvalitetskontrol.....	23
12. Analysens ydeevneegenskaber.....	23
12.1. Analysens linearitet.....	23
12.2. Analytisk sensitivitet	24
12.2.1. Blindværdigrænse (LoB)	24
12.2.2. Detektionsgrænse (LoD)	25
12.3. Måleområde	25
12.4. Nøjagtighed.....	25
12.4.1. Korrekthed (veracitet)	25
12.4.2. Nøjagtighed	27

12.4.3.	Nøjagtighed	29
12.5.	Analytisk specificitet og reaktivitet.....	30
12.5.1.	Analytisk specificitet	30
12.5.2.	Analytisk reaktivitet.....	36
12.6.	Metrologisk sporbarhed	37
13.	Egenskaber for klinisk ydeevne	37
	Bibliografi	39
	Symboler for IVD-komponenter og -reagenser	40
	Varemærker.....	40

DANSK

1. Erklæret formål

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System er en automatiseret qPCR-test designet til samtidig kvalitativ påvisning af DNA fra Herpes simplex virus 1 (HSV-1), Herpes simplex virus 2 (HSV-2) og *Treponema pallidum* (syfilis) i anogenitale og orale podningsprøver fra hudlæsioner hos patienter, som sundhedspersonale mistænker for at være inficeret med HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum*. Denne test er beregnet som en hjælp til diagnosticering af infektioner med ovennævnte mikroorganisme i kombination med patientens kliniske tegn og symptomer og epidemiologiske risikofaktorer. Positive resultater indikerer tilstedeværelsen af målnukleinsyre (NA), men udelukker ikke tilstedeværelsen af andre patogener, som testen ikke påviser. Negative resultater udelukker ikke tilstedeværelsen af nukleinsyremålene og må ikke anvendes som eneste grundlag for behandling eller andre beslutninger vedrørende patienthåndtering. Analysen anvender BD MAX™ System til automatisk ekstraktion af DNA og efterfølgende qPCR med anvendelse af de medfølgende reagenser kombineret med universelle reagenser og engangsartikler til BD MAX™ System. DNA ekstraheres fra prøverne, forstærkes ved brug af qPCR og påvises ved hjælp af specifikke primere og fluorescerende farvestoffer mærket for HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum*.

Produktet er beregnet til at blive anvendt af kvalificeret og uddannet klinisk laboratoriepersonale, der specifikt er instrueret og uddannet i teknikkerne, der er forbundet med realtids-PCR og *in vitro*-diagnostiske procedurer (herunder uddannet i brugen af termocyklere (instrument til realtids-PCR) og systemer til nukleinsyreekstraktion).

2. Oversigt og forklaring

De humane Herpes simplex-virus (HSV) type 1 og 2 er to af de mest udbredte humane vira på verdensplan, som almindeligvis forbindes med sygdomme som forkølelsessår, genital herpes, herpes stromal keratitis, meningitis og encefalitis (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). HSV manifesterer sig primært på hud og slimhinder og forårsager vedvarende infektioner, der består af perioder med hvile (latens) og tilbagevendende sygdom (reaktivering) (Cole, 2020; Minaya et al., 2017). Overførsel af både HSV-1 og HSV-2 sker gennem oral kontakt, mens HSV-2-infektioner opstår senere, typisk ved seksuel overførsel. Disse virus kliniske manifestationer varierer stærkt fra asymptomatiske, milde eller til livstruende (Cole, 2020; WHO, 2023; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Hos de fleste immunkompetente personer forårsager HSV mild og selvbegrænsende sygdom (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Hos nogle kan HSV-infektion dog også være forbundet med høj morbiditet og dødelighed, for eksempel hos immunsvækkede patienter, der lider af tilbagevendende HSV-infektion (Cole, 2020; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Det er blevet bemærket, at en infektion med én type HSV typisk genererer immunitet, der forhindrer reinfektion med samme serotype, men ikke med den anden type (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021).

Spirokæten *Treponema pallidum* er anerkendt som den ætiologiske agens for venerisk syfilis, yaws, endemisk syfilis og pinta, som alle er flertrinsinfektioner, der kun kan differentieres på grundlag af kliniske, epidemiologiske og geografiske kriterier (Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023; Radolf et al., 2016; Tudor et al., 2022). *T. p. pertenue* er associeret med yaws, *T. carateum* med pinta og *T. p. endemicum* med endemisk syfilis, mens *T. pallidum pallidum*-underarterne er de eneste underarter, der er ansvarlig for venerisk syfilis. (Mercuri et al., 2022; Tudor et al., 2022).

Syfilis forløber gennem flere stadier, hver især med forskellige tegn og symptomer, såsom chanker ved primær syfilis og udslæt eller sår ved sekundær syfilis (CDC, 2023; Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023). På grund af de mange forskellige kliniske manifestationer omtales syfilis ofte for "den store imitator" (Peeling et al., 2023; Tudor et al., 2022). Denne sygdom har ramt forskellige risikopopulationer gennem historien, og selvom den næsten var udryddet i 1998, har dens forekomst været stigende siden 2000 (Mercuri et al., 2022).

Det anbefales altid at teste for at skelne mellem HSV-1 og HSV-2, da dette har betydning for både prognose og behandling. CDC anbefaler at bekræfte den kliniske diagnose med typespecifikke virologiske og serologiske tests (Cole, 2020). En pålidelig laboratoriemetode til diagnosticering af akutte genitale HSV-infektioner er påvisning af HSV-1- og HSV-2-DNA ved polymerasekædereaktion (PCR) (Cole, 2020). I forbindelse med *T. pallidum* har direkte påvisning og serologisk testning været anvendt til laboratoriediagnostik, da denne patogen ikke kan dyrkes (Forrestel et al., 2020). På grund af den høje genetiske lighed mellem patogene treponemer er serologiske tests er imidlertid ikke i stand til at skelne syfilis fra andre treponemale infektioner (Forrestel et al., 2020). Nukleinsyreforstærkningsteknikker, for eksempel PCR, muliggør påvisning af bakterielt DNA i kliniske prøver i de tidlige stadier af sygdommen. Disse teknikker tilbyder en potentiel strategi til bekæmpelse af syfilisepidemien på grund af deres høje følsomhed (Peeling et al., 2023).

3. Procedurens princip

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System er designet til samtidig kvalitativ påvisning af DNA fra Herpes simplex virus 1 (HSV-1), Herpes simplex virus 2 (HSV-2) og *Treponema pallidum* (syfilis) i anogenitale og orale podningsprøver fra hudlæsioner. Efter DNA-isolering identificeres HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum* ved amplifikation af et konserveret område af *glycoprotein L UL1* -genet i HSV-1, *glycoprotein G US4* -genet i HSV-2 og *16S rRNA* -genet i *T. pallidum* ved hjælp af specifikke primere og fluorescensmærkede prober.

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System er baseret på DNA-polymerasens 5' exonucleaseaktivitet. Under DNA-amplifikationen hydrolyserer dette enzym proben, som er hybridiseret til den komplementære DNA-sekvens, hvilket medfører adskillelse af quencherfarvestoffet fra reporteren. Denne reaktion genererer en forøgelse af det fluorescerende signal, som er proportional med mængden af målskabelonen. Denne fluorescens måles af BD MAX™ System.

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System indeholder hvert reaktionsrør alle komponenter til realtids-PCR (specifikke primere/prober, dNTP'er, buffer, polymerase) i en stabiliseret¹ form, samt en endogen intern kontrol (EIC) (humant RNase P-gen) til overvågning af prøvens integritet og ekstraktionsprocessen og/eller hæmning af polymeraseaktiviteten. Humane husholdningsgener deltager i basal cellulær vedligeholdelse og forventes derfor at være til stede i alle kerneholdige humane celler, hvor de opretholder relativt stabile ekspressionsniveauer.

Mål	Kanal	Gen
HSV-1	475/520	<i>Glycoprotein L, UL1</i> -gen
HSV-2	530/565	<i>Glycoprotein G, US4</i> -gen
<i>T. pallidum</i>	630/665	<i>16S rRNA</i> -gen
Endogen intern kontrol (EIC)	585/630	<i>RNase P</i>

Tabel 1. Mål, kanal og gener.

4. Leverede reagenser

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System indeholder følgende materialer og reagenser, som er beskrevet i Tabel 2:

Reagens/Materiale	Beskrivelse	Koncentrationsområde	Stregkode	Mængde
<i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> reaction tube	Lyoprotektorer og stabilisatorer	± 6 g/100 mL*	1E-folie	2 poser med 12 transparente rør
	Nukleotid-trifosfat (dNTP'er)	± 1 mM*		
	Primere og prober	0,2-1 nMol/μL*		
	Enzymer	10-100 U/rxn*		
Rehydration Buffer tube	Saline Solution Mixture	± 13 mM	11 folie	1 pose med 24 transparente rør
	Buffer (TRIS, pH)	± 67 mM		

Tabel 2. Reagenser og materialer leveret i VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System med kat. nr. 444222.

* Ved komponenter i stabiliseret format angiver koncentrationsområdet værdierne efter rehydrering.

5. Reagenser og udstyr, der skal anskaffes af brugeren

Følgende angiver materialer, der er nødvendige til brug, men ikke er inkluderet i VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

- Instrument til realtids-PCR: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 eller 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vortexer.
- Mikropipetter (nøjagtighed mellem 2 og 1000 μL).

¹ Bemærk, at både udtrykkene "stabiliseret" og "lyofiliseret" anvendes vilkårligt og som synonymmer i hele dokumentet.

- Nukleasefrit vand.
- Filterspidser.
- Pulverfrie engangshandsker.

Valgfrit:

- Eksterne kontrolmaterialer kan køres som en del af kvalitetskontrolproceduren for analysens ydeevne. Kommercielt tilgængeligt kontrolmateriale og/eller prøver, der tidligere er karakteriseret som positive eller negative, kan anvendes som henholdsvis ekstern positiv kontrol (EPC) eller ekstern negativ kontrol (ENC). Udvælgelsen og valideringen af EPC og ENC skal udføres i overensstemmelse med gældende lokale, regionale og/eller nationale bestemmelser og standardprocedurerne i laboratoriets kvalitetskontrol. Desuden skal brugeren følge de respektive brugsanvisninger, når der anvendes kommercielt tilgængeligt kontrolmateriale.

6. Betingelser for transport, opbevaring og brug

- Sættene kan sendes og opbevares ved 2-30 °C indtil udløbsdatoen, der er angivet på sættets etiket.
- Undgå vibrationer under transport for at forhindre væskelækage.
- Efter åbning af aluminiumsposerne, der indeholder reaktionsrørene, kan produktet bruges i op til 28 dage ved 2-30 °C. Hold hætteglasset væk fra lys.

Nedenstående tabel indeholder en oversigt over betingelserne for transport, opbevaring og brug af det samlede prøvesæt og hver komponent:

Komponent	Transportforhold	Opbevaringsforhold	Opbevaring efter anbrud
Hele VIASURE HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System	2-30 °C i holdbarhedsperioden, der er angivet på sættets etiket.	Før brug: 2-30 °C i holdbarhedsperioden, der er angivet på sættets etiket.	* Se brugsbetingelserne for hver komponent.
HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> reaction tube (1E-folie)		Før brug: 2-30 °C i holdbarhedsperioden, der er angivet på sættets etiket. Når posen med silicagel er åbnet: 2-30 °C i op til 28 dage.	Rumtemperatur.
Rehydration Buffer tube		Før brug: 2-30 °C i holdbarhedsperioden, der er angivet på sættets etiket. Når posen med silicagel er åbnet: 2-30 °C i op til 28 dage.	Rumtemperatur.

Tabel 3. Sammenfatning af betingelserne for transport, opbevaring og brug af VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System og hver enkelt komponent.

7. Forholdsregler for brugere

- Produktet er beregnet til at blive anvendt af kvalificeret og uddannet klinisk laboratoriepersonale, der specifikt er instrueret og uddannet i teknikkerne forbundet med realtids-PCR og *in vitro*-diagnostiske procedurer.
- Til *in vitro*-diagnostisk brug.

- Brugsanvisningen til VIASURE-produktet og BD MAX™ System skal læses omhyggeligt, før brug af VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Udfør ikke analysen, før oplysningerne om procedurer, sikkerhedsforanstaltninger og begrænsninger, der er beskrevet heri, er forstået.
- Brug ikke reagenser og/eller materialer, hvis udløbsdatoen er overskredet.
- Brug ikke sættet, hvis etiketten, der forseglar den ydre æske, er i stykker.
- Brug ikke reagenser, hvis beskyttelsesæsken er åben eller i stykker ved ankomsten.
- Brug ikke reagenser, hvis beskyttelsesposerne er åbne eller i stykker ved modtagelsen.
- Brug ikke reagenser, hvis tørremidlet ikke er til stede eller er i stykker inden i reagensposerne.
- Tørremidlet må ikke fjernes fra reagensposerne.
- Brug ikke reagenser, hvis folien er blevet anbrudt eller er beskadiget.
- Reagenser fra forskellige poser og/eller sæt og/eller partier må ikke blandes.
- Luk straks beskyttelsesposer med reagenser med lynlåsforseglingen efter hver brug. Fjern eventuel overskydende luft i poserne inden forsegling.
- Beskyt reagenserne mod fugt. Længerevarende eksponering for fugt kan påvirke produktets ydeevne.
- For at undgå forringelse af etiketten må produktet ikke anvendes i nærheden af opløsningsmidler.
- Et udseende af reaktionsblandingen i stabiliseret format, som normalt findes i bunden af røret, der er forskelligt fra det sædvanlige (uden konisk form, inhomogent, mindre/større i størrelse og/eller en anden farve end hvidlig) ændrer ikke testens funktionalitet.
- Sørg for, at reaktionsrøret og rehydreringsbufferrøret sidder sikkert fast, mens BD MAX™ prøvestativet opstilles.
- I tilfælde, hvor andre PCR-tests udføres i det samme område i laboratoriet, skal der udvises forsigtighed for at sikre, at VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3-ekstraktionssættet eller eventuelle yderligere reagenser, der kræves til testning, og BD MAX™ System ikke kontamineres. Undgå altid mikrobiel kontaminering samt kontaminering med ribonuklease (RNase) og deoxyribonuklease (DNase) af reagenserne. Det anbefales at anvende sterile RNase/DNase-fri aerosolresistente engangspipettespidser eller positive fortrængningspipettespidser. Brug en ny spids til hver prøve. Handsker skal udskiftes før håndtering af reagenser og kassetter (BD MAX™ PCR Cartridge).
- For at undgå kontaminering af miljøet med amplikoner må BD MAX™ PCR Cartridge ikke brydes fra hinanden efter brug. Forseglingerne på BD MAX™ PCR Cartridge er designet til at forhindre kontaminering.
- Tilrettelæg en ensrettet arbejdsgang. Den skal begynde i ekstraktionsområdet og derefter flyttes til forstærknings- og detektionsområdet. Prøver, udstyr og reagenser må ikke returneres til det område, hvor det foregående trin blev udført.

- Følg god laboratoriepraksis. Bær beskyttelsesbeklædning, anvend engangshandsker, beskyttelsesbriller og maske. Man må ikke spise, drikke, ryge eller lægge makeup i arbejdsområdet. Vask hænder efter endt test.
- Prøverne skal behandles som potentielt smitsomme og/eller biologisk farlige, samt alle reagenser og materialer, der er blevet eksponeret for prøverne, og skal håndteres i overensstemmelse med de nationale sikkerhedsforskrifter. Træf de nødvendige forholdsregler under indsamling, opbevaring, behandling og bortskaffelse af prøver.
- Prøver og reagenser skal håndteres i et biologisk sikkerhedsskab. Anvend personlige værnemidler (PPE) i overensstemmelse med gældende retningslinjer for håndtering af potentielt smitsomme prøver. Affald bortskaffes i overensstemmelse med lokale retningslinjer.
- Regelmæssig dekontaminering af almindeligt anvendt udstyr anbefales, især mikropipetter og arbejdsflader.
- I overensstemmelse med Forordning (EF) nr. 1907/2006 (REACH), kræver VIASURE Assays for BD MAX™ System ikke sikkerhedsdatablade som en del af deres klassificering som værende ufarlige for helbredet og miljøet, da de ikke indeholder stoffer og/eller blandinger, som opfylder kriterierne for fareklassificering iht. forordning (EF) nr. 1272/2008 (CLP), eller forefindes i koncentrationer, der er højere end den værdi, der er angivet i den nævnte forordning til deres erklæring. En erklæring om, at der ikke er behov for et sikkerhedsdatablad, kan rekvireres hos Certest Biotec S.L.
- Sørg for, at definitionen af PCR-testprogrammet på BD MAX™ System er udført ved at følge instruktionerne i afsnittet 'PCR-protokol' (parametre for prøveekstraktion, brugerdefinerede stregkoder, PCR-indstillinger osv.).
- Se brugsanvisningen til BD MAX™ System for yderligere advarsler, forholdsregler og procedurer.
- Analysecertifikatet er ikke inkluderet i enheden; det kan dog anmodes om det fra Certest Biotec S.L. website (www.certest.es) efter behov.

8. Analysemetode

8.1. Indsamling, transport og opbevaring af prøver

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System er blevet testet podningsprøver fra anogenitale og orale hudlæsioner indsamlet ved hjælp af Copan ESwab® (Copans Liquid Amies Elution Swab) (i det følgende benævnt kliniske hudlæsionsprøver). Andre typer prøver skal valideres af brugeren.

Indsamling, opbevaring og transport af prøver skal foregå i overensstemmelse med de betingelser, som er godkendt af brugeren. Generelt skal kliniske prøver indsamles og etiketteres på passende vis i rene beholdere med eller uden transportmedium (afhængigt af prøvetypen). Efter indsamling skal prøverne anbringes i en pose til farligt biologisk materiale og transporteres og behandles hurtigst muligt for at sikre testens kvalitet. Prøverne skal transporteres ved stuetemperatur (RT) i op til 2 timer eller ved 2±2 °C i op til 48 timer i

overensstemmelse med de lokale og nationale bestemmelser for transport af patogen materiale. Ved langtidstransport anbefaler vi forsendelse ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eller lavere². Prøver, der indsendes til molekylær testning, skal opbevares under kontrollerede forhold, så nukleinsyrerne ikke nedbrydes under opbevaringen. Det anbefales at bruge friske prøver til testen. Hvis dette ikke er muligt, eller ved en retrospektiv undersøgelse, skal prøverne opbevares ved -70 eller $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ eller, alternativt ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ³.

De kliniske prøver skal indsamles, transporteres og opbevares i overensstemmelse med relevante retningslinjer for laboratorier og/eller retningslinjerne i laboratorievejledninger. Som eksempel henvises der til IDSA-vejledningen (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S.,... & Pritt, B. S. (2018). En vejledning i anvendelse af mikrobiologilaboratoriet til diagnosticering af smitsomme sygdomme: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94) eller Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J. & Orta Mira, N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin. (Engelsk udg.)* 37, 127–134 (2019).

Bemærk følgende: Ovennævnte betingelser for indsamling, transport og opbevaring af prøver foreslås baseret på anbefalingerne for urogenitale prøver, som er beregnet til brug ved påvisning af nukleinsyrer, som det fremgår af de tidligere nævnte vejledninger. Ikke desto mindre anbefaler vi, at laboratoriets retningslinjer og/eller laboratoriets manual for korrekt transport og opbevaring af prøver følges.

En intern stabilitetsundersøgelse af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System blev udført ved brug af negativ klinisk hudlæsiionsmatrix tilsat humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493 ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex virus type 2, stamme MS (ref. 0810006CF, Zeptomatrix) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University) i 3xLoD-koncentration. Stabiliteten blev analyseret ved hjælp af tre forskellige analysemetoder: indlejret stabilitet af den primære prøve med stabilitet i SBT ved $2\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ og $25\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, stabilitet af den primære prøve ved $-20\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ og fryse/optøningscyklusser ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Resultaterne viste en god ydeevne for prøver, der blev opbevaret under alle testede forhold. Konklusion: Hvad angår stabiliteten af den primære prøve er prøver af kliniske hudlæsioner stabile efter 48 timer ved $2\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ og $25\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Hvad angår stabilitet i SBT er prøverne stabile efter 7 dage i SBT ved $2\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ og $25\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (efter opbevaring i op til 48 timer ved $2\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ og $25\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ før tilsætning til SBT). Endvidere er prøverne stabile efter 6 måneders opbevaring ved $-20\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ og i mindst 5 fryse/optøningscyklusser.

² IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). En vejledning i anvendelse af mikrobiologilaboratoriet til diagnosticering af smitsomme sygdomme: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94))

³ Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J. & Orta Mira, N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin. (Engelsk udg.)* 37, 127–134 (2019).

8.2. Klargøring af prøver og DNA-ekstraktion

Klargør prøverne ved at følge brugsanvisningen til det anvendte ekstraktionskit, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipetter 500 µL prøve i et BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube, og luk røret med en septumhætte. Der sikres fuldstændig blanding ved at vortexe prøven ved høj hastighed i 1 minut. Fortsæt til BD MAX™ System Operation.

Bemærk: Vortex prøven et par minutter, før kørslen startes. Hvis det samme BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube bruges til gentestning, anbefales det at ryste røret manuelt et par minutter, før testen startes. Dette sikrer korrekt homogenisering af prøven.

Bemærk, at applikationsspecifikke forberedende ekstraktionsprocedurer bør udvikles og valideres af brugeren, og at visse andre typer prøver kan kræve forbehandling.

8.3. PCR-protokol

Bemærk: Der henvises til brugeranvisningen til BD MAX™ System User's Manual for at få detaljerede instruktioner.

8.3.1. Oprettelse af et PCR-testprogram for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System

Bemærk: Hvis testen for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, kan trin 8.3.1 springes over. Gå i stedet direkte til 8.3.2.

- 1) Vælg fanen "Run" (Kør) på skærmen på BD MAX™ System, og vælg fanen "Test Editor" (Testredigering).
- 2) Klik på knappen "Create" (Opret).

På fanen "Basic Information" (Grundlæggende oplysninger):

- 3) I feltet "Test Name" (Testnavn) angives navnet på testen: dvs. VIASURE HHT.

Bemærk: Testnavnet skal være unikt og må maksimalt bestå af tyve tegn.

- 4) Vælg "ExK TNA-3" i rullemenuen "Extraction Type" (Ekstraktionstype).
- 5) I rullemenuen "Master Mix Format" (Master Mix-format) vælges "Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer" (Type 5: koncentreret frysetørret MM med rehydreringsbuffer).
- 6) Vælg "User Defined" (Brugerdefineret) i feltet "Sample Extraction Parameters" (Prøveekstraktionsparametre), og juster følgende parameterværdier (tabel 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Prøveekstraktionsparametre)	Value (units) (Værdi (enheder))
<i>Lysis Heat Time</i> (Opvarmningstid, lysering)	15 (min.)
<i>Lysis Temperature</i> (Temperatur, lysering)	55 (°C)
<i>Sample Tip Height</i> (Prøvespidshøjde)	1600 (trin)
<i>Sample Volume</i> (Prøvevolumen)	475 (µL)
<i>Wash Volume</i> (Skyllevolumen)	500 (µL)
<i>Neutralization Volume</i> (Neutraliseringsvolumen)	I/R
<i>DNase Heat Time</i> (Opvarmningstid, DNase)	I/R

Tabel 4. Parametre for prøveekstraktion udført med BD MAX™ ExK™ TNA-3.

- 7) Vælg "Call Ct at Threshold Crossing" (Beregn Ct når tærsklen krydses) (valgt som standard) i feltet "Ct Calculation" (Ct-beregning).
- 8) Hvis softwareversion 5.00 eller nyere køres, og rørene har kliklås og stregkodet folie, vælges følgende konfiguration i "Custom Barcodes" (Brugerdefinerede stregkoder):
 - a. "Snap-In 2 Barcode" (Kliklås 2-stregkode): 1E (ved *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* - reaction tube).
 - b. "Snap-In 3 Barcode" (Kliklås 3-stregkode): 11 (ved Rehydration Buffer tube).

På fanen "PCR Settings" (PCR-indstillinger):

- 9) I feltet "PCR settings" (PCR-indstillinger) indtastes følgende parametre, der er beskrevet i tabel 5: "Alias" (op til syv alfanumeriske tegn), "PCR Gain" (PCR-forstærkning), "Threshold" (Tærskel), "Ct Min" (Ct min.) og "Ct Max" (Ct maks.).

<i>Channel</i> (Kanal)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>PCR Gain</i> (PCR-forstærkning)	<i>Threshold</i> (Tærskel)	<i>Ct Min</i> (Ct min.)	<i>Ct Max</i> (Ct maks.)
475/520 (FAM)	HSV1	40	200	0	40
530/565 (HEX)	HSV2	60	200	0	40
585/630 (ROX)	EIC	40	200	0	40
630/665 (Cy5)	TRE	60	200	0	40
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Tabel 5. PCR settings (PCR-indstillinger).

Bemærk: Det anbefales at angive minimumsgrænseværdierne angivet ovenfor for hver kanal som udgangspunkt, men de endelige indstillinger bør bestemmes af slutbrugeren ved fortolkning af resultaterne for at sikre, at tærskler falder inden for eksponentiel fase af fluorescenskurverne og over ethvert baggrundssignal. Tærskelværdien for forskellige instrumenter kan variere på grund af forskellige signalintensiteter.

10) Indtast følgende parametre i feltet “Color compensation” (Farvekompensering) (tabel 6):

	<i>Channel</i> (Kanal)	<i>False Receiving Channel</i> (Falsk modtagekanal)				
		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
<i>Excitation Channel</i> (Excitationskanal)	475/520	-	4	0	0	0
	530/565	0	-	0	0	0
	585/630	0	0	-	4	0
	630/665	0	0	0	-	0
	680/715	0	0	0	0	-

Tabel 6. Parametre for “Color compensation” (Farvekompensering).

På fanen “Melt Settings” (Smelteindstillinger) er der ikke behov for at foretage nogen handling, da den ikke er relevant for dette produkt.

På fanen “Test Steps” (Testtrin):

11) Indtast trinnavnet (op til tyve tegn) og indstil følgende parametre til definition af hvert trin i PCR-protokollen: “Profile Type” (Profiltype), “Cycles” (Cyklusser), “Time” (Tid) og “Temperature” (Temperatur), og vælg feltet “Detect” (Detektér) for at definere detektionstrinnet (tabel 7). Klik på knappen “Add” (Tilføj) for at tilføje et nyt trin, og gentag, indtil alle de nødvendige trin er defineret.

Bemærk: Feltet “Type” skal være tomt.

<i>Step</i> (Trin)	<i>Step name</i> (Trinnavn)	<i>Profile Type</i> (Profiltype)	<i>Cycles</i> (Cyklusser)	<i>Time (s)</i> (Tid (er))	<i>Temperature</i> (Temperatur)	<i>Detect</i> (Detektion)
Initial denaturation (Indledende denaturering)	IN-denaturation	<i>Hold</i>	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturering og annotering/udvidelse (dataindsamling))	Annealing/Extension	<i>2- Temperature</i>	45	10	95°C	-
				41	63°C	✓

Tabel 7. PCR-protokol.

På fanen “Result Logic” (Resultatlogik):

12) I feltet “Target” (Mål) angives målet: dvs. HSV1 (op til syv alfanumeriske tegn). Gentag trin 12-15 for hvert mål (dvs. HSV2 eller TRE) ved at følge tabellerne, der er specifikke for det mål, der defineres.

13) Klik på afkrydsningsfeltet “Analyze” (Analysér) for at inkludere de ønskede bølgelængder (PCR-kanaler) i analysen af resultatet for målet (tabel 8-10).

<i>Wavelength</i> (Bølgelængde)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyse)
475/520	HSV1	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tabel 8. Valg af PCR-kanaler i “Result logic” (Resultatlogik) for HSV1-målet (Herpes simplex virus 1) .

<i>Wavelength</i> (Bølgelængde)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyse)
530/565	HSV2	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tabel 9. Valg af PCR-kanaler i "Result logic" (Resultatlogik) for HSV2-målet (Herpes simplex virus 2).

<i>Wavelength</i> (Bølgelængde)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyse)
585/630	EIC	PCR	✓
630/665	TRE	PCR	✓

Tabel 10. Valg af PCR-kanaler i fanen "Result logic" (Resultatlogik) for TRE-målet (*Treponema pallidum*).

14) Klik på knappen "Edit Logic" (Rediger Logik).

15) I vinduet "Edit Logic" (Rediger Logik) vises alle kombinationer af resultattyper. For hver række skal du i rullemenuen "Result" (Resultat) vælge det resultat, der kaldes frem, når betingelserne i den pågældende række er opfyldt ifølge tabel 11-13.

<i>Result</i> (Resultat)	HSV1 (475/520)	EIC (585/630)
POS	Gyldig	Gyldig
UNR	Gyldig	Ugyldig
NEG	Ugyldig	Gyldig
UNR	Ugyldig	Ugyldig

Tabel 11. Liste over kombinationen af resultattyper og resultatlogik for HSV1-mål (Herpes simplex virus 1). Tilgængelige resultater er POS (positive), NEG (negative) og UNR (kan ikke bestemmes).

<i>Result</i> (Resultat)	HSV2 (530/565)	EIC (585/630)
POS	Gyldig	Gyldig
UNR	Gyldig	Ugyldig
NEG	Ugyldig	Gyldig
UNR	Ugyldig	Ugyldig

Tabel 12. Liste over kombinationen af resultattyper og resultatlogik for HSV2-mål (Herpes simplex virus 2). Tilgængelige resultater er POS (positive), NEG (negative) og UNR (kan ikke bestemmes).

<i>Result</i> (Resultat)	TRE (630/665)	EIC (585/630)
POS	Gyldig	Gyldig
UNR	Gyldig	Ugyldig
NEG	Ugyldig	Gyldig
UNR	Ugyldig	Ugyldig

Tabel 13. Liste over kombinationen af resultattyper og resultatlogik for TRE-mål (*Treponema pallidum*). Tilgængelige resultater er POS (positive), NEG (negative) og UNR (kan ikke bestemmes).

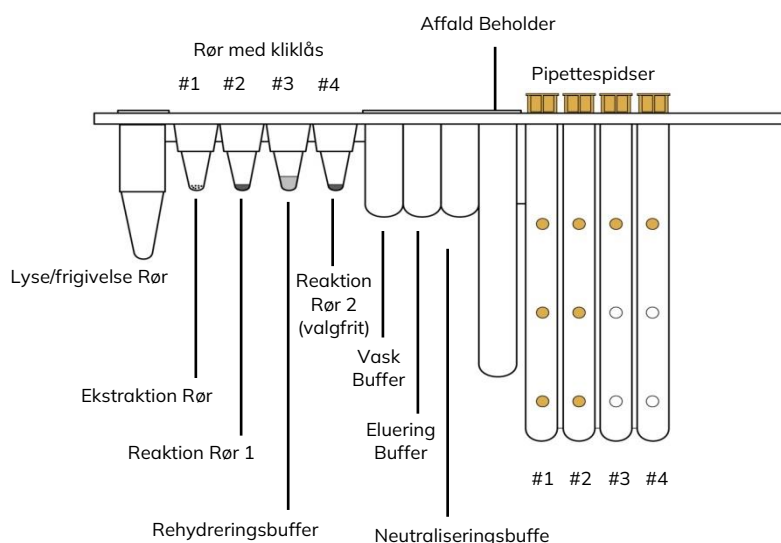
Bemærk: Jævnfør den tidligere definerede Ct Max (tabel 5) betragtes resultattypen for kanalerne HSV1 (475/520), HSV2 (530/565), EIC (585/630) og TRE (630/665) som "Valid" (Gyldig), når den opnåede Ct-værdi er ≤ 40 ; og "Invalid" (Ugyldig), når den opnåede Ct-værdi er > 40 .

16) Klik på knappen "Save" (Gem) for at gemme testen.

8.3.2. Opsætning af BD MAX™ prøvestativ

- 1) For hver prøve, der skal testes, fjernes en Unitized Reagent Strips (samlet reagensstrimmel) fra BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit. Bank forsigtigt hver strimmel mod en hård overflade for at sikre, at alle væskerne ligger i bunden af rørene, og anbring dem i BD MAX™ Systems prøvestativer.
- 2) Fjern det nødvendige antal BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (hvid folie) fra deres beskyttelsespose. Sæt udtræksrør(-rørene) (hvid folie) i de tilsvarende positioner i TNA-strimlen (fastgør position 1, hvid farvekodning på stativet. Se Figur 1). Fjern overskydende luft, og luk posen med lynlåsforseglingen.
- 3) Bestem og adskil det passende antal *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* reaction tube (1E foil), og klik dem ind i deres respektive positioner i strimlen (snap-position 2, grøn farvekodning på stativet. Se Figur 1).
 - a. Fjern overskydende luft, og luk aluminiumsposerne med lynlåsforseglingen.
 - b. Rehydreringen udføres korrekt ved at sørge for, at det frysetørrede produkt ligger i bunden af røret og ikke er i kontakt med rørets top eller folieforseglingen. Bank forsigtigt hvert rør mod en hård overflade for at sikre, at alt produktet er i bunden af røret.
- 4) Fjern det nødvendige antal Rehydration Buffer tubes (11 folie), og klik dem fast på deres tilsvarende pladser på strimlen (klik-position 3, ikke-farvet kodning på prøvestativet. Se Figur 1).
 - a. Fjern overskydende luft, og luk aluminiumsposerne med lynlåsforseglingen.
 - b. For at sikre, at overførslen udføres korrekt, skal man sørge for, at væsken ligger i bunden af røret og ikke er i kontakt med rørets top eller folieforsiglingen. Bank forsigtigt på hvert rør på en hård overflade for at sikre, at al bufferen er i bunden af røret.

Figur 1. BD MAX™ TNA Reagent strimmel (TNA) fra BD MAX™ ExK™ TNA-3 prøvesæt.



8.3.3. BD MAX™ Instrumentopsætning

- 1) Vælg fanen "Worklist" på skærmen "Run" (Kør) på BD MAX™ Systemsoftware v4.50A eller nyere.
- 2) Vælg den ønskede test: dvs. VIASURE HHT (hvis den ikke allerede er oprettet, se afsnit 8.3.1) i rullemenuen "Test".
- 3) Vælg det relevante lotnummer for sættet (findes på den udvendige æske til ekstraktionssættet, der anvendes) (valgfrit) i rullemenuen "Kit Lot Number" (Sættets lotnummer).
 Bemærk: Lotnumre skal defineres i visningen "Inventory" (Beholdning), før de kan vælges her.
- 4) Indtast identifikationsnummeret for "Sample Buffer Tube" i feltet "Sample tube" (Prøverør), ved enten at scanne stregkoden med scanneren eller ved manuel indtastning.
- 5) Udfyld feltet "Patient ID" (Patient-id) og/eller feltet "Accession" (Adgang), og klik på tabulatortasten eller Enter-tasten. Fortsæt, indtil alle stregkoder til Sample Buffer Tubes (prøvebufferrør) er indtastet. Sørg for, at "specimen/patient ID" (prøve-/patient-id) og Sample Buffer Tubes (prøvebufferrør) matcher nøjagtigt.
- 6) Anbring det klargjorte Sample Buffer Tube i BD MAX™ prøvestativet/-stativerne.
- 7) Sæt stativet/stativerne i BD MAX™ System (stativ A er placeret i venstre side af BD MAX™ System og stativ B i højre side).
- 8) Anbring det nødvendige antal BD MAX™ PCR Cartridge(s) i BD MAX™ System.
- 9) Luk lågen til BD MAX™ System.
- 10) Klik på "Start" for at starte proceduren.

8.3.4. Resultatrapport for BD MAX™

- 1) Klik på knappen "Results" (Resultater) på menubjælken.
- 2) Dobbeltklik enten på din kørsel på listen, eller tryk på knappen "View" (Vis).
- 3) Knapperne "Print" (Udskriv) og "Export" (Eksporter) nederst på skærmen aktiveres.

Sådan udskrives resultaterne:

1. Klik på knappen "Print" (Udskriv).
2. I forhåndsvisningsvinduet "Print" (Udskriv) vælges: "Run Details" (Kør detaljer), "Test Details" (testdetaljer) og "Plots" (tegn grafik).
3. Klik på "Print" (Udskriv) for at udskrive rapporten, eller klik på "Export" (Eksporter) for at eksportere en PDF-fil af rapporten til et USB-stik.

Sådan eksporteres resultaterne:

1. Klik på knappen "Export" (Eksporter) for at overføre rapporten (PDF- og CSV-fil) til et USB-stik.
2. Når eksporten er fuldført, vises ikonet for succes/mislykket i vinduet "Results Export" (Resultater eksporteret).

9. Tolkning af resultater

For en detaljeret beskrivelse af, hvordan man analyserer data, se BD MAX™ Systems brugervejledning.

Analysen af data udføres som BD MAX™-software i overensstemmelse med producentens anvisninger. BD MAX™-softwaren rapporterer Ct-værdier og stigningskurver for hver detektorkanal for hver prøve, som er testet på følgende måde:

- En Ct-værdi på 0 angiver, at der ikke blev beregnet nogen Ct-værdi af softwaren ved den angivne tærskelværdi (se tabel 5). En forstærkningskurve for prøven, der viser en Ct-værdi på "0", skal kontrolleres manuelt.
- En Ct-værdi på -1 angiver, at der ikke er sket nogen forstærkningsproces, at der ikke blev beregnet nogen Ct-værdi af softwaren, eller at den beregnede Ct-værdi ligger under den angivne tærskel eller over den fastlagte Ct maks. (detektionsgrænse).
- Enhver anden Ct-værdi skal fortolkes i sammenhæng med amplificeringskurven og i henhold til den definerede resultatlogik i overensstemmelse med retningslinjerne for tolkning af prøven som anført i tabel 14.

Kontrollér signalet fra endogen intern kontrol (EIC) for at verificere, at amplifikationsblandingen fungerer korrekt. Desuden skal du kontrollere, at der ikke foreligger nogen rapport over BD MAX™ Systemfejl.

Resultaterne skal læses og analyseres ved hjælp af følgende tabel:

HSV-1 (navn på mål: HSV1)	HSV-2 (navn på mål: HSV2)	<i>T. pallidum</i> (navn på mål: TRE)	Tolkning af patientens individuelle prøver
POS	POS	POS	DNA fra HSV-1, HSV-2 og <i>Treponema pallidum</i> påvist.
POS	POS	NEG	DNA fra HSV-1 og HSV-2 påvist. <i>DNA fra Treponema pallidum</i> ikke påvist.
POS	NEG	POS	DNA fra HSV-1 og <i>Treponema pallidum</i> påvist. DNA fra HSV-2 ikke påvist.
NEG	POS	POS	DNA fra HSV-2 og <i>Treponema pallidum</i> påvist. DNA fra HSV-1 ikke påvist.
POS	NEG	NEG	DNA fra HSV-1 påvist. DNA fra HSV-2 og <i>Treponema pallidum</i> ikke påvist.
NEG	POS	NEG	DNA fra HSV-2 påvist. DNA fra HSV-1 og <i>Treponema pallidum</i> ikke påvist.
NEG	NEG	POS	DNA fra <i>Treponema pallidum</i> påvist. DNA fra HSV-1 og HSV-2 ikke påvist.
NEG	NEG	NEG	DNA fra HSV-1, HSV-2 og <i>Treponema pallidum</i> ikke påvist.
UNR	UNR	UNR	Resultatet Unresolved (UNR) (Kan ikke bestemmes) fremkommer under tilstedeværelsen af hæmmere i PCR-reaktionen, eller når der opstår et generelt problem (der ikke rapporteres med en fejlkode) under prøvebehandlingen og/eller forstærkningstrinnene. ¹
IND	IND	IND	Analyseresultatet er Indeterminate (ubestemmeligt) (IND). Skyldes en fejl i BD MAX™ System. Analyseresultat, der vises i tilfælde af en instrumentfejl, der er knyttet til en fejlkode. ²

INC	INC	INC	Analyseresultatet er Incomplete (ufuldstændigt) (INC). Skyldes en fejl i BD MAX™ System. Analyseresultatet vises, hvor en fuldstændig kørsel ikke kunne gennemføres.²
-----	-----	-----	---

Tabel 14. Prøvefortolkning.

1 Den endogene interne kontrol (EIC) skal vise et forstærkningssignal med en Ct-værdi ≤ 40 for at blive taget i betragtning. Hvis der mangler signal for EIC, eller Ct-værdien er > 40 , betragtes resultatet som "Kan ikke bestemmes" (UNR), og det er nødvendigt at teste igen. Det anbefales at gentage analysen fra samme Sample Buffer Tube (SBT) fra samme prøve ved at tilberede et nyt SBT eller fra en ny prøve (med højere koncentration, hvis muligt). Det kan også forekomme, at det resultatet Ubestemt (UNR) skyldes tilstedeværelsen af hæmmere i PCR-reaktionen. I sådanne tilfælde anbefales det at fortynde prøverne 1/10.

BEMÆRK: Prøver af kliniske hudlæsioner kan opbevares uden overførsel til SBT i op til 48 timer, hvis de opbevares ved 2 ± 2 °C- 25 ± 2 °C (opbevaret i ESwab® fra Copan). Ved gentestning fra samme SBT anbefales det at ryste SBT manuelt for at sikre tilstrækkelig homogenisering af prøven. Bemærk, at prøver af kliniske hudlæsioner kan opbevares i SBT i op til 7 dage ved 2 ± 2 °C- 25 ± 2 °C.

2 Ubestemmelige (IND) eller ufuldstændige (INC) resultater kan opnås på grund af en systemfejl, og der vil kræves en ny test. Se brugsanvisningen til BD MAX™ System for oplysninger om fortolkning af advarsels- og fejlkoder.

Bemærk: Når der anvendes eksterne kontroller, skal de give følgende forventede resultater; negativ for ENC og positiv for EPC (det forventes, at kendte positive prøver kun er positive for de mikroorganismer, der er til stede i prøven). En ENC, der giver et positivt testresultat, er tegn på en kontaminering eller en fejl i håndteringen af prøven. En EPC, der giver et negativt resultat, er tegn på et problem med håndtering/forberedelse af prøven. Gennemgå teknikken til håndtering/forberedelse af prøven. Hvis der opstår en fejl med en ekstern kontrol, er det nødvendigt at genteste.

I tilfælde af et fortsat tvetydigt resultat anbefales det at gennemgå brugsanvisningen, den ekstraktionsproces, som brugeren anvender; til at verificere den korrekte ydeevne for hvert PCR-trin og gennemgå parametrene og kontrollere kurvens sigmoide form og fluorescensintensiteten.

Resultaterne af testen bør evalueres af en sundhedsperson og sammenholdes med sygehistorie, kliniske symptomer og andre diagnostiske tests.

10. Begrænsninger i testen

- Resultaterne af testen bør evalueres af en sundhedsperson og sammenholdes med sygehistorie, kliniske symptomer og andre diagnostiske tests.
- Selvom denne analyse kan anvendes til andre prøvetyper, er den kun blevet valideret med podepinde med anogenitale prøver og prøver af orale hudlæsioner.
- For at opnå en tilfredsstillende testydelse skal det frysetørrede produkt ligge i bunden af røret og ikke klæbe til det øverste område af røret eller folieforseglingen. Bank forsigtigt hvert rør mod en hård overflade for at sikre, at alt produktet er i bunden af røret.
- Mulig krydstale kan observeres i tomme kanaler i BD MAX™ System, hvis der ikke er noget mål, der skal detekteres. Det er derfor nødvendigt kun at vælge de kanaler, hvor disse forstærkes, når der udføres fortolkning af resultaterne. Kontakt venligst viasuresupport@certest.es ved eventuelle spørgsmål.
- Kvaliteten af testen afhænger af prøvens kvalitet; nukleinsyrerne skal ekstraheres omhyggeligt fra kliniske prøver.
- Denne test er en kvalitativ test og giver ikke kvantitative værdier eller angiver antallet af tilstedeværende organismer. Det er ikke muligt at korrelere de Ct-værdier, der blev opnået ved PCR, med koncentrationen af prøven, da de afhænger af den anvendte termocykler og af selve kørslen.
- Meget lave målniveauer under detektionsgrænsen kan påvises, men resultaterne er muligvis ikke reproducerbare.
- Bemærk det tilsigtede måleområde for analysen, da prøver med koncentrationer over eller under dette område kan give fejlagtige resultater.
- Der er mulighed for falske-positive resultater som følge af krydskontaminering HSV-1-, HSV-2- og/eller *T. pallidum*-prøver, der indeholder høje koncentrationer af mål-DNA eller er kontamineret med PCR-produkter fra tidligere reaktioner.
- De specifikke primer- og probekompositioner, der anvendes til påvisning af *glycoprotein L UL1*-genet ved HSV-1, *glycoprotein G US4*-genet ved HSV-2 og *16S rRNA*-genet ved *T. pallidum* i VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, viser ikke betydelige kombinerede homologier med det humane genom, den humane mikroflora eller andre mikroorganismer, som kunne medføre forudsigelige falsk positive resultater.
- Falsk-negative resultater kan skyldes flere faktorer og kombinationer som angivet herunder:
 - Forkerte metoder til indsamling, transport, opbevaring og/eller håndtering af prøver.
 - Forkerte behandlingsprocedurer (herunder DNA-ekstraktion).
 - Nedbrydning af DNA under forsendelse/opbevaring og/eller behandling af prøver.
 - Mutationer eller polymorfismer i primer- eller sondebindingsområder kan påvirke påvisning af nye eller ukendte HSV-1-, HSV-2- og/eller *T. pallidum*-stammer.
 - En mikrobiel belastning i prøven under detektionsgrænsen for analysen.

- Tilstedeværelsen af qPCR-hæmmere eller andre typer interfererende stoffer. Virkningen af vacciner, visse antivirale lægemidler, antibiotika, kemoterapi eller immunsuppressive lægemidler, der anvendes til at forebygge infektionen eller anvendes under behandlingen af infektionen, er ikke blevet evalueret.
- Virkningen af interfererende stoffer er kun blevet evalueret for de stoffer, der er angivet i afsnit 12.5.1 (undersøgelse af interfererende stoffer) i denne brugsanvisning. Se dette afsnit for at kontrollere de mest almindelige endogene og eksogene stoffer, der fremkalder total eller delvis interferens med qPCR-reaktionen. Andre stoffer, der ikke er angivet i denne del, kan føre til fejlagtige resultater.
- Manglende overholdelse af brugsanvisningen og analyseproceduren.
- Et positivt testresultat indikerer ikke nødvendigvis tilstedeværelsen af levedygtige mikroorganismer og det betyder ikke, at disse mikroorganismer er smitsomme, eller at de forårsager kliniske symptomer. Et positivt resultat er dog indikativt for tilstedeværelsen af HSV-1-, HSV-2- og/eller *T. pallidum*-målsekevenser.
- Negative resultater udelukker ikke tilstedeværelsen af DNA fra HSV-1, HSV-2 og/eller *T. pallidum* i en klinisk prøve, og de bør ikke anvendes som eneste grundlag for behandling eller andre beslutninger om patientbehandling. Optimale prøvetyper og tidspunktet for maksimale virusniveauer under infektioner forårsaget af HSV-1, HSV-2 og/eller *T. pallidum* er ikke fastlagt. Det kan være nødvendigt at indsamle flere prøver (typer og tidspunkter) fra den samme patient for at detektere patogenet.
- Hvis diagnostiske tests for andre seksuelt overførte sygdomme (STD) er negative, og kliniske observationer, patientens sygehistorie og epidemiologiske oplysninger antyder, at infektion med HSV-1, HSV-2 og/eller *T. pallidum* er mulig, bør et falsk negativt resultat overvejes, og en ny test af patienten bør overvejes.
- Fluorescensværdier kan variere på grund af flere faktorer som f.eks.: PCR-udstyr (selv samme model), ekstraktionssystem, prøvetype, tidligere behandling af prøven osv... blandt andet.
- Positive og negative prædiktive værdier er stærkt afhængige af prævalens i alle in vitro-diagnostiske tests. Ydeevnen af VIASURE HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay for BD MAX™ System kan variere afhængigt af prævalensen og den testede population.
- Gentestning vil være nødvendig, hvis der opnås uløste, ubestemmelige eller ufuldstændige resultater under brug af VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Uklare resultater kan skyldes tilstedeværelsen af hæmmere i prøven eller forkert rehydrering af rør med frysetørret reaktionsblanding. Hvis der opstår en instrumentfejl, kan det medføre ubestemmelige eller ufuldstændige resultater.

11. Kvalitetskontrol

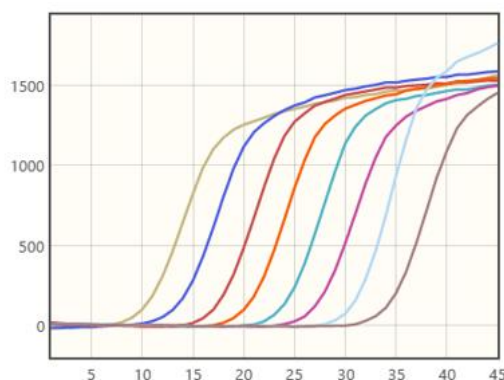
VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System indeholder en endogen intern kontrol (EIC) i hvert reaktionsrør, som bekræfter korrekt præstation af teknikken. Desuden muliggør brugen af eksterne kontroller (EPC og ENC) bekræftelse af analysens ydeevne. Eksterne kontroller anvendes ikke af BD MAX™ System til fortolkning af resultater, men betragtes som en prøve. Den eksterne positive kontrol (EPC) er beregnet til at overvåge en eventuel fejl i analysereagenserne, mens den eksterne negative kontrol (ENC) er beregnet til at detektere miljømæssig kontaminering eller kontaminering af reagenser med målnukleinsyrer.

12. Analysens ydeevneegenskaber

12.1. Analysens linearitet

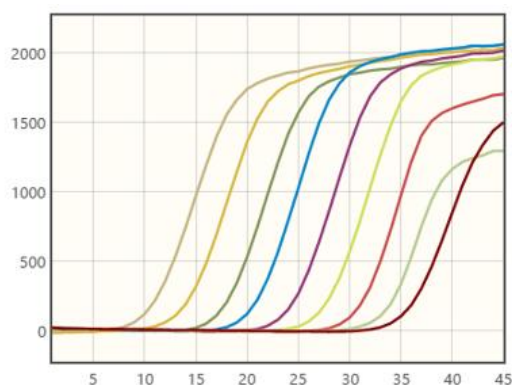
Analysens linearitet blev fastlagt og bekræftet gennem test af en række 10-fold fortyndinger af en kunstig hudlæsionsmatrix⁴ (Artificial Matrix for Cutaneous Lesion, Biochemazone BZ394) indeholdende en kendt koncentration (fra 2E+07 til 2E+01 kopier/μL) af specifikt og syntetisk DNA tilhørende HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum*. Et eksempel på forstærkningskurven, der resulterer af analysen, er medtaget nedenfor:

Figur 2. Kørsel af fortyndingsserie med skabelon HSV-1 (2E+07 til 2E+01 kopier/μL) på BD MAX™ System (kanal 475/520 (FAM)).

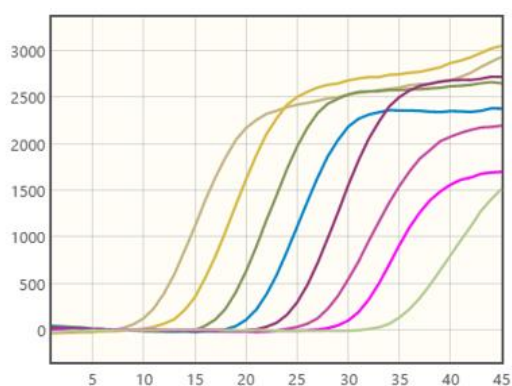


⁴ Som følge af den begrænsede tilgængelighed af podedpinde med anogenitale prøver og prøver af orale hudlæsioner blev der udført et ækvivalensstudie mellem den kliniske og referencematrixen for at bekræfte, at referencematrixen kunne anvendes i valideringsanalyser. Derfor blev både kliniske matrixer og referencematrixer testet og bekræftet som værende ækvivalente.

Figur 3. Kørsel af fortyndingsserie med skabelon HSV-2 ($2E+07$ til $2E+01$ kopier/ μ L) på BD MAX™ System (kanal 530/565 (HEX)).



Figur 4. Kørsel af fortyndingsserie med skabelon *T. pallidum* ($2E+07$ til $2E+01$ kopier/ μ L) på BD MAX™ System (kanal 630/665 (Cy5)).



12.2. Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet omtales ofte detektionsgrænsen (LoD). I praksis bestemmes parametrene for LoD (detektionsgrænsen) og LoB (blindværdigrænse) som led i evalueringen af den analytiske sensitivitet.

12.2.1. Blindværdigrænse (LoB)

“Blindværdigrænsen” (LoB), en kontrolanalyse uden skabelon, blev udført ved hjælp af tre partier af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System og 24 replikater af tre prøvetyperr: negative prøver af kliniske hudlæsioner, referencematrix for hudlæsion og RNase-/DNase-frit vand.

Fravær af signal i FAM-, HEX- og Cy5-kanalerne blev verificeret, ligesom tilstedeværelsen af signal for den endogene interne kontrol (EIC) i ROX-kanalen ved negativ matrix (klinisk eller referencematrix for hudlæsioner). Konklusion: De opnåede resultater bekræftede, at produktet ikke genererer uspecifikke amplifikationer i de forskellige testede matrixer.

12.2.2. Detektionsgrænse (LoD)

Detektionsgrænsen (LoD) for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System blev analyseret med tre partier og brug af prøver af kliniske hudlæsioner. De anvendte referencestammer var humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493, ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex virus type 2, stamme MS (ref. 0810006CF (Zeptomatrix)) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University). Konklusion: VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* og *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System udviste en LoD på $2,52\text{E}+02$ TCID₅₀/mL for HSV-1, $6,30\text{E}+00$ TCID₅₀/mL for HSV-2 og $6,60\text{E}+03$ celler/mL for *T. pallidum* med en positiv rate på $\geq 95\%$ i prøver af kliniske hudlæsioner.

12.3. Måleområde

Måleområdet for analysen blev bestemt ved at teste en række tifoldsfortyndinger, der indeholder en kendt koncentration af specifik og syntetisk DNA tilhørende HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum*. Resultaterne gjorde det muligt at bekræfte den korrekte målpåvisning fra $2\text{E}+07$ til $2\text{E}+00$ kopier/ μL for målet HSV-1 og *T. pallidum* og fra $2\text{E}+07$ til $2\text{E}-01$ kopier/ μL for målet HSV-2.

Konklusion: Bestemmelsen af måleområdet for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System blev påvist med positivt resultat, hvilket sikrer pålidelige, præcise og reproducerbare resultater over et bredt spektrum af virus- og bakteriebelastninger og bekræfter analysens anvendelighed i en række klinisk-diagnostiske scenarier.

12.4. Nøjagtighed

12.4.1. Korrekthed (veracitet)

Pålideligheden af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System blev evalueret ved testning af referencematerialet anført herunder tilsat matrixen for hudlæsioner.

1. Syntetiske DNA-fragmenter

- Syntetisk DNA-fragment af *glycoprotein L UL1*-gen af HSV-1: HSV1.XPC, FAM-kanal.
- Syntetisk DNA-fragment af *glycoprotein G US4*-gen af HSV-2: HSV2.XPC, HEX-kanal.
- Syntetisk DNA-fragment af *16S rRNA*-gen af *T. pallidum*: TREXPC, Cy5-kanal.

Alle de syntetiske DNA-fragmenter blev påvist korrekt i den respektive kanal.

2. American Type Culture Collection (ATCC®)

Ekstern reference	Mikroorganisme	Produktnavn	Varietet	Resultat
VR-1493	Herpes simplex virus 1	Human herpesvirus 1	Stammen KOS	Detekteret
VR-260	Herpes simplex virus 1	Human Herpesvirus 1	Stammen HF	Detekteret
VR-539	Herpes simplex virus 1	Human Herpesvirus 1	Stammen MacIntyre	Detekteret
VR-733	Herpes simplex virus 1	Human Herpesvirus 1	Stammen F	Detekteret
VR-3393	Herpes simplex virus 2	Human Herpesvirus 2	Stammen G	Detekteret
VR-1779	Herpes simplex virus 2	Human Herpesvirus 2	Stammen ATCC-2011-2	Detekteret
BAA-2642SD	<i>Treponema pallidum</i>	Quantitative Synthetic <i>Treponema pallidum</i> DNA	I/R	Ikke påvist

Tabel 15. Referencemateriale fra American Type Culture Collection (ATCC®).

Alle stammerne fra ATCC blev korrekt påvist i den respektive kanal, og EIC viste amplifikation med en Ct-værdi på ≤ 40 med undtagelse af materialet Quantitative Synthetic *Treponema pallidum* DNA (ATCC-kode BAA-2642SD). Dette syntetiske DNA inkluderer fragmenter af *polA*-genet, *23S*-genet, *16S*-genet, *flaA*, *47kDa*-proteingenet og *bmp*, men fraværet af påvisning ved meget høj koncentration (op til $4,70E+04$ kopier/ μ L) ved brug af VIASURE-analysen tyder på, at målregionen inden for *16S*-genet ikke er inkluderet i det syntetiske DNA fra ATCC. Det kan derfor ikke anvendes som referencemateriale.

3. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)

Ekstern reference	Mikroorganisme	Produktnavn	Varietet	Resultat
16/368	Herpes simplex virus 1	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1)	I/R	Detekteret
17/122	Herpes simplex virus 2	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2)	I/R	Detekteret

Tabel 16. Referencemateriale fra National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC).

Alle stammerne fra NIBSC blev korrekt påvist i den respektive kanal, og EIC viste amplifikation med en Ct-værdi på ≤ 40 .

4. Kontrolmateriale

Ekstern reference	Oprindelse	Mikroorganisme	Produktnavn	Varietet	Resultat
0810006CF	ZeptoMetrix	Herpes simplex virus 2	Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV-2)	Stammen MS	Detekteret
MBC109	Vircell S.L.	<i>Treponema pallidum</i>	AMPLIRUN® TREPONEMA PALLIDUM DNA CONTROL	I/R	Detekteret
I/R	University of Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	Stammen Nichols	Detekteret
I/R	University of Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	Stammen SS14	Detekteret

Tabel 17. Kontrolmateriale til HSV-2 og *T. pallidum* fra Vircell S.L, ZeptoMetrix og University of Washington.

Alle stammerne og det anvendte referencemateriale blev korrekt påvist i den respektive kanal, og EIC viste amplifikation med en Ct-værdi på ≤ 40 .

12.4.2. Nøjagtighed

Nøjagtigheden af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System blev bestemt ved brug af intra-assay (reproducerbarhed), inter-assay, inter-batch og inter-udstørsanalyser (reproducerbarhed) med en referencematrix for hudlæsion tilsat referencestammerne Human herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493, ref FR-310 (IRR)), Herpes simplex virus type 2, stamme MS (ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University).

Intra-assay

Intra-assay af en analyse blev testet ved at analysere seks replikater af alle prøver i samme kørsel ved brug af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. En sammenfatning af resultaterne er vist i tabellen nedenfor.

Mål	Kanal	Prøvetype	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
HSV-1	475/520 (FAM)	3 x LoD	33,32	0,49	1,48
		5 x LoD	32,93	0,12	0,37
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	31,08	0,40	1,28
		5 x LoD	32,00	0,24	0,74
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	30,42	0,15	0,48
		5 x LoD	29,90	0,48	1,60
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3 x LoD	34,17	0,55	1,61
		5 x LoD	31,95	0,43	1,35
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R

Tabel 18. Intra-assay-resultater for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = tærskelcyklus. ($\bar{x}$) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, (σ) = standardafvigelse, (CV %) = variationskoefficient, NEG = negativ, I/R = ikke relevant.

Inter-assay

Inter-assay blev bestemt ved at teste fire replikater af de forskellige prøver på tre forskellige dage af tre forskellige operatører ved brug af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. En sammenfatning af resultaterne er vist i tabellen nedenfor.

Mål	Kanal	Prøvetype	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
HSV-1	475/520 (FAM)	3 x LoD	33,21	0,47	1,41
		5 x LoD	31,85	0,78	2,43
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	33,83	0,56	1,66
		5 x LoD	32,68	0,48	1,48
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	29,82	0,43	1,43
		5 x LoD	29,94	0,40	1,33
		Negativ kontrol	29,78	0,46	1,54
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3 x LoD	32,61	1,07	3,29
		5 x LoD	31,86	1,24	3,88
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R

Tabel 19. Inter-assay-resultater for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = tærskelcyklus. ($\bar{x}$) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, (σ) = standardafvigelse, (CV %) = variationskoefficient, NEG = negativ, I/R = ikke relevant.

Inter-batch

Inter-batch blev bestemt med seks replikater af de forskellige prøver ved hjælp af tre batches af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. En sammenfatning af resultaterne er vist i tabellen nedenfor.

Mål	Kanal	Prøvetype	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
HSV-1	475/520 (FAM)	3 x LoD	33,26	0,46	1,38
		5 x LoD	33,29	0,33	1,00
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	30,98	0,86	2,78
		5 x LoD	32,70	0,58	1,79
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	30,04	0,57	1,89
		5 x LoD	30,26	0,56	1,86
		Negativ kontrol	29,97	0,69	2,31
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3 x LoD	33,53	0,76	2,26
		5 x LoD	32,24	0,55	1,69
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R

Tabel 20. Inter-batch-resultater for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = tærskelcyklus. ($\bar{x}$) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, (σ) = standardafvigelse, (CV %) = variationskoefficient, NEG = negativ, I/R = ikke relevant.

Inter-termocykler

Inter-termocykler blev bestemt med fire replikater af de samme prøver, der blev anvendt til intraassay, inter-assay og inter-batch ved brug af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System og tre forskellige BD MAX™ System. En sammenfatning af resultaterne er vist i tabellen nedenfor.

Mål	Kanal	Prøvetype	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
HSV-1	475/520 (FAM)	3 x LoD	33,71	0,52	1,54
		5 x LoD	32,68	0,59	1,79
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	33,56	0,80	2,39
		5 x LoD	32,65	0,42	1,28
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	29,51	0,77	2,59
		5 x LoD	29,23	0,39	1,33
		Negativ kontrol	29,98	0,52	1,75
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3 x LoD	32,28	0,62	1,93
		5 x LoD	31,19	0,40	1,29
		Negativ kontrol	NEG	I/R	I/R

Tabel 21. Inter- termocykler-resultater for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = tærskelcyklus. ($\bar{x}$) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, (σ) = standardafvigelse, (CV %) = variationskoefficient, NEG = negativ, I/R = ikke relevant.

Konklusionen er, at nøjagtighedsundersøgelsen bekræftede den pålidelige ydeevne og pålidelighed af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

12.4.3. Nøjagtighed

Nøjagtighedseksperimentet blev udført ved analyse af paneler fra eksterne kvalitetsvurderingsprogrammer (EQA-programmer). Prøver indeholdende HSV-1, HSV-2 eller *T. pallidum* blandt andre ikke-målmikroorganismer blev analyseret. Alle testresultater, der fremgår af den følgende tabel, blev sammenlignet med de endelige rapporter, der blev leveret af udbyderne af EQA-programmerne.

Mål	ORA	TP	TN	FP	FN	PPA	NPA
HSV-1	1 (0,51-1)	4	30	0	0	1 (0,40-1)	1 (0,88-1)
HSV-2	1 (0,90-1)	12	22	0	0	1 (0,74-1)	1 (0,85-1)
<i>Treponema pallidum</i>	0,97 (0,85-0,99)	7	26	0	1	0,88 (0,47-0,99)	1 (0,87-1)

Tabel 22. Nøjagtighedsresultater for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (ORA) = overensstemmelse, (TP) = sand positiv, (TN) = sand negativ, (FP) = falsk positiv, (FN) = falsk negativ, (PPA) = positiv procentuel overensstemmelse, (NPA) = negativ procentuel overensstemmelse.

Konklusion: VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System leverer høj nøjagtighed ved påvisning af DNA fra HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum* med fremragende NPA- og PPA-værdier på tværs af alle testede stammer.

12.5. Analytisk specificitet og reaktivitet

Den analytiske specificitet og reaktivitet blev evalueret for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System *in silico* og ved brug af forskellige startmaterialer såsom certificerede referencestammer, certificeret reference-RNA'er/DNA'er og materiale fra EQAs-programmerne.

12.5.1. Analytisk specificitet

Analytisk specificitet er analysens evne til at detektere den tilsigtede målsekvens. Fire faktorer skal tages i betragtning med hensyn til analytisk specificitet: krydsreaktivitet, samtidig infektion, interferens fra mikrobielle agenser og interferens fra stoffer. Krydsreaktivitet kan forekomme, når genetisk beslægtede mikroorganismer forekommer i en patientprøve, mens mikrobiel interferens kan opstå, hvis disse genetisk beslægtede mikroorganismer påvirker påvisningen af målmikroorganismerne, når de forekommer. Studiet af samtidig infektion har til formål at vurdere, om målmikroorganismer ved forskellige koncentrationer i samme prøve kan påvirke deres indbyrdes påvisning. Endelig kan stofinterferens forekomme, hvis forekomsten af specifikke stoffer, der potentielt findes i prøvematrixen, påvirker ydeevnen af qPCR.

Krydsreaktivitet: *in silico* analyse

Krydsreaktiviteten blev vurderet ved at anvende referencesekvenser af patogenerne fra NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) og værktøjer til alignment som BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), en in-house bioinformatisk analysesoftware.

De viste resultater omfatter kun sekvenser med en homologiprocent højere end 80 %. Sekvenser med en alignmentprocent på mindre end 80 % homologi forventes ikke at blive påvist.

Treponema pallidum

Alle analyserede sekvenser havde en homologiprocent på under 80 % med *T. pallidum*-primere og probesættet.

In silico-analyse af krydsreaktivitet påviste 100 % homologitet med *Treponema paraluiscluniculi* (Taxid ID: 53435 og 545766). Dog blev disse sekvenser ifølge en NCBI-søgning fundet at være heterotype eller taxonomisk synonyme og er også identiske med *Treponema pallidum*.

Som følge heraf kan ingen af de analyserede sekvenser, inklusive dem, der viser en homologitet på over 80 %, påvirke den korrekte påvisning af *Treponema pallidum*.

Humant alfaherpesvirus 1

Alle analyserede sekvenser havde en homologiprocent på under 80 % med HSV-1-primere og probesættet.

In silico-analyse af krydsreaktivitet påviste 98,33 % homologitet med chimpanseherpesvirus alfa-1 stamme 105640 (Taxid ID: 332937). Vært for denne stamme af alfaherpesvirus er chimpansen (*Pan troglodytes*). Herpesvira er yderst værtsspecifikke og deler en lang synkron evolution med deres værter. Denne virus ikke blevet identificeret hos mennesker og betragtes for øjeblikket ikke som zoonotisk virus. Derfor interfererer de ikke med påvisningen af coronavirus HSV-1.

Som følge heraf kan ingen af de analyserede sekvenser, inklusive dem, der viser en homologitet på over 80 %, påvirke den korrekte påvisning af HSV-1.

Humant alfaherpesvirus 2

Alle analyserede sekvenser havde en homologiprocent på under 80 % med HSV-2-primere og probesættet.

Konklusion: Designmålene HSV-1-, HSV-2- og *T. pallidum*-for VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ ikke bør forårsage falsk positive resultater ved påvisning af *Treponema pallidum*, humant alfaherpesvirus 1 og humant alfaherpesvirus 2, når andre organismer er til stede.

Analytisk specificitet: eksperimentel test

Krydsreaktivitet: eksperimentel test

Krydsreaktiviteten af VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System blev bekræftet ved at teste et panel af en række forskellige mikroorganismer forbundet med symptomer på seksuelt overførte infektioner eller miljømæssigt og fylogenetisk relevante mikroorganismer. Hvor det var muligt, og når data over koncentrationer var tilgængelige, blev de interfererende mikroorganismer evalueret på medicinsk relevante niveauer (normalt 1E+05 – 1E+06 cfu/mL for bakterier og fungi og 1E+04 – 1E+05 pfu/mL for vira). Der blev ikke påvist nogen krydsreaktivitet mellem nogen af de testede mikroorganismer, med undtagelse af målmikroorganismerne.

Testning af krydsreaktivitet					
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	-	Haemophilus influenzae, stamme L-378	-	Listeria monocytogenes serovar 4b	-
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius 1863 CECT 2071	-	Hepatitis A HM175/18f	-	Monkeypox virus	-
<i>Atopobium vaginae</i>	-	Herpes Simplex Virus type-1 1st WHO IS for HSV-1	+	<i>Mycoplasma genitalium</i> , stamme M30	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	Herpes Simplex Virus type-2 1st WHO IS for HSV-2	+	<i>Mycoplasma hominis</i> , stamme LBD-4	-
<i>Candida albicans</i>	-	Herpesvirus 2, stamme MS	+	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , stamme NCTC 8375 [B 5025]	-
<i>Candida glabrata</i>	-	Humant herpesvirus, stamme 1 HF	+	<i>Neisseria meningitidis</i> , stamme M2091	-

Testning af krydsreaktivitet					
<i>Candida krusei</i> Issatchenkia orientalis Kudryavtsev 1960 CECT 1433	-	Humant herpesvirus, stamme 1 F	+	<i>Proteus mirabilis</i> NCDC 2059-70	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	Humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC-VR-1493)	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , stamme RH 815	-
<i>Candida tropicalis</i> (Castellani) Berkhout 1923 CECT 1005	-	Humant herpesvirus 1, stamme MacIntyre	+	<i>Serratia marcescens</i> subsp. marcescens	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> , serovar E	-	Humant herpesvirus 2, stamme ATCC -2011 -2	+	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. Aureus, stamme Seattle 1945	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	Humant herpesvirus 2, stamme G	+	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , stamme 810-2	-
<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. cloacae	-	Humant papillomavirus 16	-	<i>Treponema pallidum</i> DNA Control, Vircell	+
<i>Enterococcus faecalis</i> type, stamme CECT 8120	-	Humant papillomavirus 18	-	<i>Treponema pallidum</i> stamme Nichols	+
<i>Enterococcus faecium</i> vanA, stamme CECT 5253	-	<i>Klebsiella oxytoca</i> , stamme MIT 10-5243	-	<i>Treponema pallidum</i> , stamme SS14	+
Epstein-Barr Virus, 1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , stamme UHKPC57	-	<i>Trichomonas vaginalis</i> , QCMD TV18S-01	-
<i>Escherichia coli</i> , type stamme	-	<i>Listeria innocua</i>	-	<i>Ureaplasma urealyticum</i> , T-stamme 960 (CX8) [960, CIP 103755, NCTC 10177]	-
<i>Gardnerella vaginalis</i> 594 [NCTC 10287]	-	<i>Listeria ivanovii</i> subsp. londoniensis	-	Varicella Zoster Virus, stamme Ellen	-
<i>Haemophilus ducreyi</i> , klasse I	-	<i>Listeria monocytogenes</i> serovar 1/2	-		

Tabel 23. Patogene referencemikroorganismer inkluderet i analysen af krydsreaktivitet. +/- resultatet henviser til det positive eller negative resultat, der opnås i de forskellige kanaler afhængigt af det påviste mål. Hvis en testet mikroorganisme er et af målene, der påvises af testen, opnås et positivt resultat i den tilsvarende kanal, men et negativt resultat i de øvrige kanaler.

Konklusion: Resultaterne fra krydsreaktivitetsanalyserne indikerer høj specificitet af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, hvilket mindsker risikoen for falsk positive resultater. Da der ikke blev observeret nonspecifikke amplifikationer med andre beslægtede mikroorganismer, tyder det på, at testen er i stand til nøjagtigt at skelne målene.

Undersøgelse af coinfektion

Et studie af coinfektion blev udført ved hjælp af humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493, ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex virus type 2, stamme MS (ref., 0810006CF (Zeptomatrix)) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University) i forskellige koncentrationer for at bekræfte, at tilstedeværelsen af enhver af dem, uafhængigt af koncentrationen, ikke påvirker deres indbyrdes påvisning. Tre prøver af negativ matrix af klinisk hudlæsion tilsat referencematerialet blev analyseret: Ét mål ved lav koncentration (3xLoD) og de øvrige mål ved meget høj koncentration, normalt 1E+04-1E+05 enheder/mL, hvis muligt.

Resultaterne bekræfter, at påvisningen af de målrettede mikroorganismer ved coinfektion ikke er påvirket ved analyse med VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ved forskellige koncentrationer.

Undersøgelse af interfererende mikrobielle agens

Et studie af mikrobiel interferens blev gennemført for at analysere potentielt interfererende mikrobielle agenser for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Et panel af en række forskellige mikroorganismer, der er klinisk, miljømæssigt og fylogenetisk relevante, blev testet ved tilstedeværelse af mål for HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum* ved brug af prøver af kliniske hudlæsioner med negativ matrix, tilsat humant herpesvirus 1, stammen KOS (ATCC® VR-1493, ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex virus type 2, stamme MS (ref. 0810006CF (Zeptomatrix)) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University). Hvor det var muligt, og når data over koncentrationer var tilgængelige, blev virus, bakterier og/eller fungi evalueret på medicinsk relevante niveauer (typisk 1E+05 – 1E+06 cfu/mL for bacteria/fungi og 1E+04 – 1E+05 pfu/mL for vira).

Positiv matrixkontrol (Positive Matrix Control, PMC) og Negativ matrixkontrol (Negative Matrix Control, NMC) er inkluderet som testkontrol. PMC svarer til den negative matrix tilsat specifikke målstammer uden nogen interfererende mikrobiel agens, mens NMC svarer til den negative BAL-matrix uden nogen interfererende mikrobiel agens.

Mikroorganismens navn	Testkoncentration	Resultat
PMC	I/R	N.I.
NMC	I/R	N.I.
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Ikke tilgængelig	N.I.
<i>Atopobium vaginae</i>	4.52E+03 cfu/μL	N.I.
<i>Candida albicans</i>	4.18E+03 cfu/μL	N.I.
<i>Candida glabrata</i>	2.46E+03 cfu/μL	N.I.
<i>Candida parapsilosis</i>	Ikke tilgængelig	N.I.
<i>Candida tropicalis</i>	3.04E+04 cp/μL	N.I.
<i>Chlamydia trachomatis</i> , serovar E	3.20E+06 IFU/mL	N.I.
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,28E+03 cfu/μL	N.I.
1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	5,00E+04 IU/mL	N.I.
<i>Gardnerella vaginalis</i> 594 [NCTC 10287]	4,40E+05 cfu/mL	N.I.
<i>Haemophilus ducreyi</i> , klasse I	1,40E+02 cp/μL	N.I.
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,20E+03 cfu/μL	N.I.
Hepatitis A	2,80E+03 TCID50/μL	N.I.
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Ikke tilgængelig	N.I.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ikke tilgængelig	N.I.
<i>Listeria innocua</i>	Ikke tilgængelig	N.I.
<i>Listeria ivanovii</i> subsp. londoniensis	Ikke tilgængelig	N.I.
<i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 4031)	2,90E+03 cfu/μL	N.I.
<i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 935)	2,70E+03 cfu/μL	N.I.
<i>Mycoplasma hominis</i>	4,40E+03 cfu/μL	N.I.
<i>Mycoplasma genitalium</i>	3,80E+03 cfu/μL	N.I.

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6,20E+03 cfu/μL	N.I.
<i>Neisseria meningitidis</i>	5,70E+04 cfu/μL	N.I.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+04 cfu/μL	N.I.
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,60E+04 cfu/μL	N.I.
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9,20E+03 cfu/μL	N.I.
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2,00E+04 cfu/μL	N.I.
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	8,10E+05 cfu/mL	N.I.
<i>Bacteroides fragilis</i>	3,40E+02 cp/μL	N.I.
<i>Enterococcus faecalis</i> type stamme	5,00E+05 cfu/mL	N.I.
<i>Enterococcus faecium</i> vanA	3,50E+05 cfu/mL	N.I.
Humant papillomavirus 16	1,00E+03 IE/μL	N.I.
Humant papillomavirus 18	1,00E+03 IE/μL	N.I.
<i>Serratia marcescens</i>	2,30E+05 cfu/mL	N.I.
Varicella-Zoster virus	7,26E+04 cfu/mL	N.I.
<i>Citrobacter freundii</i> type stamme	6,20E+02 cfu/μL	N.I.
<i>Escherichia coli</i> , type stamme	5,20E+02 cfu/μL	N.I.
<i>Proteus mirabilis</i>	2,55E+01 cfu/μL	N.I.
Monkeypox virus	1,50E+03 cp/mL	N.I.

Tabel 24. Analyse af interfererende mikrobielle agens. N.I. = Ingen interferens, (PMC) = positiv matrixkontrol, (NMC) = negativ matrixkontrol, (TCID50): Infektøs dosis i vævskultur 50 %, (IE): internationale enheder, (cfu): kolonidannende enheder, (cp): kopier, (IFU): infektionsenhed.

Konklusionen er, at der ikke blev observeret interferens ved påvisning af det nukleinsyremål, der blev testet med enhver af de testede mikroorganismer.

Undersøgelse af interfererende stoffer

Et studie af interferens fra stoffer blev gennemført for at undersøge den potentielle interfererende effekt af endogene og eksogene stoffer på VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. I alt 22 potentielt interfererende stoffer blev tilsat den kliniske prøve af hudlæsion med negativ matrix, som var beriget med reference-stammerne: humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493, ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex virus type 2, stamme MS (ref. 0810006CF (Zeptomatrix)) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University) og evalueret med seks replikater.

Positiv matrixkontrol (Positive Matrix Control, PMC) og Negativ matrixkontrol (Negative Matrix Control, NMC) er inkluderet som testkontrol. PMC svarer til den negative matrix tilsat specifikke målrettede stammer uden interfererende stoffer, mens NMC svarer til den negative matrix uden hverken interfererende stoffer eller tilsatte mikroorganismer/referencemateriale. Der blev opnået følgende resultater:

Navn på stof	Testkoncentration	Resultat
PMC	I/R	N.I.
NMC	I/R	N.I.
Acyclovir	6,60E-02 mg/mL	N.I.
Albumin	1,00E+01mg/mL	N.I.
Fuldblod	1,00E+00% (v/v)	N.I.
Leukocytter/monocytter	1,00E+06 cell/mL	N.I.
Mucin	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Clamiox (hydrocortison)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Neosayomol (diphenhydramin)	3,87E-02 mg/mL	N.I.
Letibalm (læbepomade)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Kasein	7,00E+00mg/mL	N.I.
Hemoal (benzocain)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Durex Frescor	5,00E+01 µl/mL	N.I.
SOIVRE Intim Oil	5,00E+01 µl/mL	I
	1,25E+01 µl/mL	N.I.
Liade	7,20E+00 mg/mL	N.I.
Kvindeurin	1,00E+01 % (v/v)	N.I.
Mandurin	1,00E+01 % (v/v)	N.I.
Fæces	2,20E-01 % (v/v)	N.I.
Sædvæske	5,00E+00 % (v/v)	N.I.
Halibut	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Vagisil creme	7,50E-01 mg/mL	N.I.
Majsstivelse	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Talquistina	2,64E+00 % (v/v)	I
	6,60E-01 % (v/v)	I
	3,30E-01 % (v/v)	I
	1,70E-01 % (v/v)	N.I.
Tioconazol	2,50E+00 mg/mL	N.I.

Tabel 25. Potentielt interfererende stoffer. N.I.: Ingen rapporterbar interferens/I: Interferens.

Forskellige potentielt interfererende stoffer, både endogene og eksogene, blev testet med VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Der blev observeret interferens ved testning af SOIVRE Intim Oil ved 50 µL/mL og Talquistina ved 2,64 % (v/v). Fortyndinger blev udført, indtil koncentrationen, hvor disse interferensvirkninger ikke længere kunne observeres, blev nået: 12,5 µL/mL for SOIVRE Intim Oil og 0,17 % (v/v) for Talquistina. Ud fra de opnåede resultater kunne det konkluderes, at der ved de undersøgte endelige koncentrationer ikke kunne observeres interferens fra de evaluerede stoffer.

12.5.2. Analytisk reaktivitet

Analytisk reaktivitet kan defineres som procentdelen af mikrobielle målstammer, eller DNA/RNA-prøver, der giver det korrekte positive resultat. Analytisk reaktivitet blev undersøgt *in silico* og ved eksperimentel analys.

Analytisk reaktivitet: *in silico* analys

Den analytiske reaktivitet af VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System blev evalueret ved hjælp af offentligt tilgængelige nukleotidsekvensdatabaser som NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), og intern bioinformatisk analysesoftware for at demonstrere, at målgenerne kan påvises korrekt af udstyret, der undersøges. *In silico*-analyse af primere og probedesign blev udført ved alignment mod i alt 4.941 analyserede sekvenser (sekvenser hentet fra databasen, hvor dubletter var fjernet) for *T. pallidum*, 9.779 for HSV-1 og 8.689 for HSV-2. De opnåede resultater er vist i følgende tabel:

<i>Treponema pallidum</i>					
Gen	Alignede sekvenser: 607				
	Uden uoverensstemmelser	Med uoverensstemmelser	Sekvenser med bekræftet påvisning	Sekvenser uden påvisning	Sekvenser med ukendt påvisning
<i>16S rRNA</i>	99,84%	0,16%	99,84%	0%	0,16%
Humant alfa herpesvirus 1					
Gen	Alignede sekvenser: 513				
	Uden uoverensstemmelser	Med uoverensstemmelser	Sekvenser med bekræftet påvisning	Sekvenser uden påvisning	Sekvenser med ukendt påvisning
<i>UL1</i>	87,33%	12,67%	97,66%	0%	2,34%
Humant alfa herpesvirus 2					
Gen	Alignede sekvenser: 549				
	Uden uoverensstemmelser	Med uoverensstemmelser	Sekvenser med bekræftet påvisning	Sekvenser uden påvisning	Sekvenser med ukendt påvisning
<i>US4</i>	93,44%	6,56%	93,44%	0%	6,56%

Tabel 26. Analytisk reaktivitet *in silico* analyse. "Alignede sekvenser" = antal sekvenser alignet uden eller med uoverensstemmelser af det samlede antal analyserede sekvenser, "Sekvenser med bekræftet påvisning" = sekvenser uden uoverensstemmelser eller vådanalyserede, hvis påvisning er garanteret, "Sekvenser uden påvisning" = sekvenser tidligere *in silico*-analyseret, hvis eksperimentelle påvisning ikke kan garanteres på grund af tidligere negativ eksperimentel evidens, "Sekvenser med ukendt påvisning" = sekvenser tidligere *in silico*-analyseret, hvis eksperimentelle påvisning ikke kan garanteres på grund af manglende eksperimentel evidens.

Sammenfattende viste inklusivitetsanalysen korrekt påvisning af *16S rRNA*, *UL1*- og *US4*-gener af *T. pallidum*, HSV-1 og HSV-2, henholdsvis, med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Analytisk reaktivitet: eksperimentel analys

Den analytiske reaktivitet af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System for HSV-1 blev evalueret mod DNA fra humant herpesvirus 1, stamme HF (ATCC-kode VR-260), humant herpesvirus 1, stamme MacIntyre (ATCC-kode VR-539), humant herpesvirus 1, stamme F (ATCC-kode VR-733) og 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1) (NIBSC 16/368), hvilket gav positive resultater.

Den analytiske reaktivitet af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System for HSV-2 blev evalueret mod DNA fra humant herpesvirus 2, stamme G (ATCC-kode VR-2011), humant herpesvirus 2, stamme ATCC-2011-2 (ATCC kode VR-1779) og 1st WHO IS for Herpes simplex virus type-2 (HSV-2) (NIBSC 17/122), hvilket gav positive resultater.

Den analytiske reaktivitet af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System for *T. pallidum* blev evalueret mod DNA fra *Treponema pallidum*, stammen Nichols (University of Washington) og *Treponema pallidum* DNA Control (Vircell MBC109), hvilket gav positive resultater.

12.6. Metrologisk sporbarhed

Denne analyse er ikke beregnet til måleformål.

13. Egenskaber for klinisk ydeevne

Den kliniske ydeevne af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System blev testet ved hjælp af prøver af anogenitale og orale hudlæsioner indsamlet af sygeplejersker ved hjælp af Copan eSwab®. Ved indsamlingen blev den sterile pødepind (FLOQSwab) placeret i det medfølgende hætteglas, der indeholder 1 mL Copan's Liquid Amies Elution Swab. Resultaterne var følgende:

	Center	Prøvetype	Arbejdsgang	Mål
1	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Spanien) i samarbejde med Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, Spanien) ved brug af prøver fra Biobanco del Sistema de Salud de Aragón (BSSA)	Pødepind med prøve af anogenital og oral hudlæsion (retrospektiv undersøgelse)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>
2	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Spanien) ved brug af prøver fra Cerba Xpert	Pødepind med prøve af anogenital og oral hudlæsion (retrospektiv undersøgelse)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>

Tabel 27. Sted, prøvetype, arbejdsproces og mål.

De sande positive og negative værdier, falsk positive og falsk negative værdier, sensitivitet, specificitet, positive prædiktive værdier (PPV), negative prædiktive værdier (NPV) samt sandsynlighedskvotient (LR) for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System blev beregnet. Resultaterne og analysen af de forskellige studier blev samlet til en enkelt referenceværdi, da begge studier anvendte samme

referencemetode, samme type prøver og samme inklusions-/eksklusionskriterier. Resultaterne er vist i den følgende tabel:

Center	Komparatoranalyse	Mål	TP	TN	FP	FN	Sensitivitet	Specificitet	PPV	NPV	LR+	LR-
1+2	Allplex™ Genital Ulcer Assay (Seegene)	HSV-1	50	96	0	1	0,98 (0,90-1)	1 (0,96-1)	1 (0,93-1)	0,99 (0,94-0,99)	188,4 (11,86-2992)	0,029 (0,006-0,14)
		HSV-2	49	97	0	1	0,98 (0,89-0,99)	1 (0,96-1)	1 (0,93-1)	0,99 (0,94-0,99)	190,2 (11,98-3021)	0,03 (0,006-0,14)
		<i>T. pallidum</i>	40	106	0	1	0,98 (0,87-0,99)	1 (0,97-1)	1 (0,91-1)	0,99 (0,96-0,99)	206,36 (12,98-3280)	0,036 (0,007-0,173)

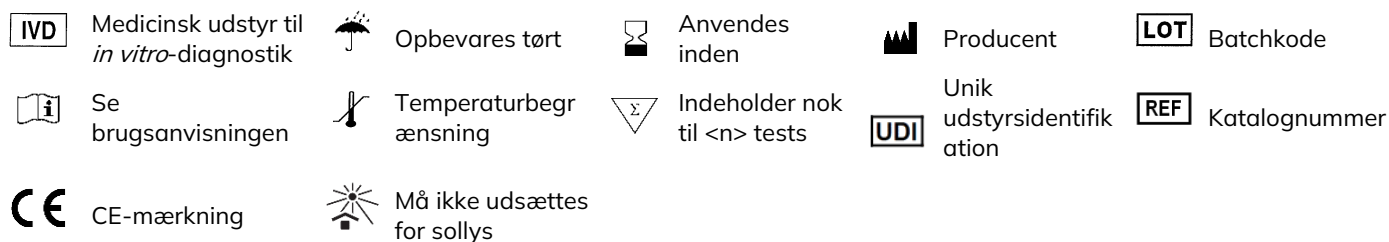
Tabel 28. Sande positive (TP) og negative værdier (TN), falsk-positive (FP) og falsk-negative (FN) værdier, følsomhed, specificitet, positive prædiktive værdier (PPV), negative prædiktive værdier (NPV) og sandsynlighedskvotienter (LR) for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Konklusion: Resultaterne viser en høj grad af overensstemmelse ved påvisning af HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum* ved brug af VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Bibliografi

- CDC. (2023). *Enfermedades de transmisión sexual (ETS)*. <https://www.cdc.gov/std/spanish/sifilis/stdfact-syphilis-s.htm>
- Cole, S. (2020). Herpes Simplex Virus: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Nursing Clinics of North America*, 55(3), 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2020.05.004>
- Forrestel, A. K., Kovarik, C. L., & Katz, K. A. (2020). Sexually acquired syphilis: Laboratory diagnosis, management, and prevention. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 82(1), 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.02.074>
- Mercuri, S. R., Moliterni, E., Cerullo, A., Di Nicola, M. R., Rizzo, N., Bianchi, V. G., & Paolino, G. (2022). Syphilis: a mini review of the history, epidemiology and focus on microbiota. *New Microbiologica*, 45(1), 28–34.
- Minaya, M. A., Jensen, T. L., Goll, J. B., Korom, M., Datla, S. H., Belshe, R. B., & Morrison, L. A. (2017). Molecular Evolution of Herpes Simplex Virus 2 Complete Genomes: Comparison between Primary and Recurrent Infections GENETIC DIVERSITY AND EVOLUTION crossm. *American Society for Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/JVI>
- Peeling, R. W., Mabey, D., Chen, X. S., & Garcia, P. J. (2023). Syphilis. *The Lancet*, 402, 336–346. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)02348-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02348-0)
- Radolf, J. D., Deka, R. K., Anand, A., Šmajš, D., Norgard, M. V., & Yang, X. F. (2016). Treponema pallidum, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen HHS Public Access. *Nat Rev Microbiol*, 14(12), 744–759. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.141>
- Tudor, M. E., Al Aboud, A. M., & Gossman, W. (2022, July 23). *Syphilis*. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL); StatPearls Publishing. <https://doi.org/10.1016/j.med.2022.04.001>
- WHO. (2023). *Herpes Simplex Virus*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>
- Zhu, S., & Viejo-Borbolla, A. (2021). Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence*, 12(1), 2670–2702. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1982373>

Symboler for IVD-komponenter og -reagenser



Varemærker

BD MAX™ er et registreret varemærke, der tilhører Becton, Dickinson and Company.

Rettigheder til ændring forbeholdes. Alle rettigheder forbeholdes. © Certest Biotec, S.L.

Alle andre varemærker og mærker, der kan forekomme i denne indlægsseddel, er deres respektive ejeres ejendom.



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, nr. 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spanien)

Tlf. (+34) 976 520 354 | viasure@certest.es | www.certest.es

Oplysninger om sponser i Australien:

Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.
Macquarie Park NSW 2113, Australien

Oplysninger om sponsor i New Zealand:

Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.
MT. Wellington Auckland 1060, New Zealand

Kontrol af ændringer		
Versionsnr.	Ændringer	Dato
00	Original version Denne version er en oversættelse af det originale engelske dokument: IUo-444222en0725.00.	27/07/2025

Tabel A 2. Tabel over ændringskontrol.

Revision: 00

VIASURE

by **certest**



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1 50840,
San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)



(+34) 976 520 354



viasure@certest.es



www.certest.es

certest

F-566 rev.03

Modification rights reserved. All rights reserved. © Certest Biotec, S.L.
The products, services and data set out in this document may suffer changes
and/or variations on the texts and pictures shown.