

Real Time PCR Detection Kit

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

CE IVD
2797

Αυτές οι οδηγίες χρήσης ισχύουν για τα εξής:

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

Πίνακας Α 1. Κωδικός προϊόντος προς χρήση με το 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.

Επισκεφθείτε τη διεύθυνση certest.es/viasure/labeling εάν η γλώσσα σας δεν περιλαμβάνεται στη λίστα. Επικοινωνήστε στη διεύθυνση viasure@certest.es εάν η γλώσσα σας δεν περιλαμβάνεται στον ιστότοπο.

Σημείωση: Ο χρήστης πρέπει να ενημερώνει τον κατασκευαστή και την αρμόδια αρχή του Κράτους Μέλους στο οποίο δραστηριοποιείται ως χρήστης ή/και ασθενής για οποιοδήποτε σοβαρό περιστατικό που σχετίζεται με το προϊόν.

Περιεχόμενο

1. Προβλεπόμενη χρήση.....	6
2. Σύνοψη και επεξήγηση	6
3. Αρχή της διαδικασίας.....	7
4. Παρεχόμενα αντιδραστήρια.....	8
5. Αντιδραστήρια και εξοπλισμός που παρέχονται από τον χρήστη.....	9
6. Συνθήκες μεταφοράς, φύλαξης και χρήσης.....	9
7. Προφυλάξεις για τους χρήστες	10
8. Διαδικασία του τεστ	12
8.1. Συλλογή, μεταφορά και φύλαξη δειγμάτων.....	12
8.2. Προετοιμασία δείγματος και εκχύλιση DNA	14
8.3. Πρωτόκολλο PCR	14
8.3.1. Δημιουργία προγράμματος τεστ PCR για το VIASURE <i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System.....	14
8.3.2. Ρύθμιση στατώ BD MAX™	18
8.3.3. Ρύθμιση οργάνου BD MAX™	19
8.3.4. Αναφορά αποτελεσμάτων BD MAX™	20
9. Ερμηνεία αποτελεσμάτων	20
10. Περιορισμοί του τεστ.....	22
11. Ποιοτικός έλεγχος	24
12. Χαρακτηριστικά αναλυτικών επιδόσεων	25
12.1. Αναλυτική γραμμικότητα.....	25
12.2. Ευαισθησία ανάλυσης	26
12.2.1. Όριο τυφλού (LoB).....	26
12.2.2. Όριο ανίχνευσης (LoD)	26
12.3. Εύρος μέτρησης	27
12.4. Ακρίβεια	27
12.4.1. Ορθότητα	27
12.4.2. Πιστότητα.....	28

12.4.3.	Ακρίβεια	31
12.5.	Αναλυτική ειδικότητα και αντιδραστικότητα	32
12.5.1.	Αναλυτική ειδικότητα.....	32
12.5.2.	Αναλυτική αντιδραστικότητα	38
12.6.	Μετρολογική ιχνηλασιμότητα.....	39
13.	Χαρακτηριστικά κλινικών επιδόσεων	40
	Βιβλιογραφία.....	41
	Σύμβολα για IVD στοιχεία και αντιδραστήρια	42
	Εμπορικά σήματα.....	42

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

1. Προβλεπόμενη χρήση

Το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System είναι ένα αυτοματοποιημένο τεστ qPCR που έχει σχεδιαστεί για την ταυτόχρονη ποιοτική ανίχνευση DNA από τον ιό απλού έρπητα 1 (HSV-1), τον ιό απλού έρπητα 2 (HSV-2) και το *Treponema pallidum* (σύφιλη) σε δείγματα επιχρισμάτων από πρωκτογεννητικές και στοματικές δερματικές βλάβες σε ασθενείς με υποψία λοίμωξης από HSV-1, HSV-2 και *T. pallidum* από τον επαγγελματία υγείας (ΕΥ) τους. Το τεστ αυτό προορίζεται για χρήση ως βοήθημα στη διάγνωση λοίμωξης από τους προαναφερθέντες μικροοργανισμούς σε συνδυασμό με τα κλινικά σημεία και συμπτώματα του ασθενούς ή/και τους παράγοντες επιδημιολογικούς κινδύνου. Τα θετικά αποτελέσματα είναι ενδεικτικά της παρουσίας των νουκλεϊκών οξέων (NA)-στόχων, αλλά δεν αποκλείουν την παρουσία άλλων παθογόνων που δεν ανιχνεύονται από το τεστ. Τα αρνητικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν την παρουσία των NA-στόχων και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως η μοναδική βάση για τη θεραπεία ή για άλλες αποφάσεις διαχείρισης ασθενών. Η δοκιμασία χρησιμοποιεί το BD MAX™ System για αυτοματοποιημένη εκχύλιση DNA και επακόλουθη qPCR, χρησιμοποιώντας τα αντιδραστήρια που παρέχονται σε συνδυασμό με τα γενικά αντιδραστήρια και αναλώσιμα του BD MAX™ System. Το DNA εκχυλίζεται από τα δείγματα, στη συνέχεια ενισχύεται χρησιμοποιώντας qPCR και ανιχνεύεται χρησιμοποιώντας ειδικούς εκκινητές και φθορίζοντες ανιχνευτές χρωστικής αναφοράς για HSV-1, HSV-2 και *T. pallidum*.

Το προϊόν προορίζεται για χρήση από ειδικευμένο και εκπαιδευμένο κλινικό εργαστηριακό προσωπικό, το οποίο έχει λάβει ειδικές οδηγίες και εκπαίδευση σε τεχνικές PCR πραγματικού χρόνου και σε *in vitro* διαγνωστικές διαδικασίες [συμπεριλαμβανομένης εκπαίδευσης για το μηχάνημα PCR πραγματικού χρόνου (θερμικός κυκλοποιητής) και το σύστημα εκχύλισης νουκλεϊκού οξέος].

2. Σύνοψη και επεξήγηση

Οι τύποι 1 και 2 του ανθρώπινου ιού απλού έρπητα (HSV) είναι δύο από τους πιο διαδεδομένους ιούς στον άνθρωπο παγκοσμίως, οι οποίοι σχετίζονται συνήθως με νόσους όπως ο επιχείλιος έρπης, ο έρπης των γεννητικών οργάνων, η ερπητική κερατίτιδα, η μηνιγγίτιδα και η εγκεφαλίτιδα (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Ο HSV προσβάλλει κυρίως το δέρμα και τους βλεννογόνους, προκαλώντας επίμονες λοιμώξεις που περιλαμβάνουν περιόδους ηρεμίας (λανθάνουσα φάση) και υποτροπιάζουσα νόσο (επανενεργοποίηση) (Cole, 2020; Minaya et al., 2017). Η μετάδοση τόσο του HSV-1 όσο και του HSV-2 γίνεται μέσω της στοματικής επαφής, ενώ οι λοιμώξεις από HSV-2 εμφανίζονται αργότερα, συνήθως μέσω σεξουαλικής μετάδοσης, και οι κλινικές εκδηλώσεις αυτών των ιών είναι εξαιρετικά ποικίλες: ασυμπτωματικές, ήπιες ή απειλητικές για τη ζωή (Cole, 2020; WHO, 2023; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Στα περισσότερα ανοσοεπαρκή άτομα, ο HSV προκαλεί ήπια και αυτοπεριοριζόμενη νόσο (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Ωστόσο, η λοίμωξη από HSV σχετίζεται επίσης με υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα σε ορισμένα άτομα, όπως οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς που πάσχουν από υποτροπιάζουσα λοίμωξη από HSV

(Cole, 2020; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Έχει παρατηρηθεί ότι η λοίμωξη από έναν τύπο HSV προκαλεί συνήθως ανοσία που αποτρέπει την επαναλοίμωξη από τον ίδιο ορότυπο, αλλά όχι από τον άλλο (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021).

Η σπειροχαίτη *Treponema pallidum* αναγνωρίζεται ως ο αιτιολογικός παράγοντας της αφροδίσιας σύφιλης, της τροπικής μόρωσης, της ενδημικής σύφιλης και της κηλιδώδους νόσου, οι οποίες είναι λοιμώξεις πολλαπλών σταδίων που μπορούν να διακριθούν μόνο με βάση κλινικά, επιδημιολογικά και γεωγραφικά κριτήρια (Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023; Radolf et al., 2016; Tudor et al., 2022). Το *T. p. pertenue* σχετίζεται με τη φθίση, το *T. carateum* με την τροπική μόρωση και το *T. p. endemicum* με την ενδημική σύφιλη, αλλά το *T. pallidum* υποείδος *pallidum* είναι το μόνο υποείδος που συνδέεται με την αφροδίσια σύφιλη (Mercuri et al., 2022; Tudor et al., 2022).

Η σύφιλη εξελίσσεται σε πολλαπλά στάδια, το καθένα με διαφορετικά σημεία και συμπτώματα, όπως μαλακά έλκη στη πρωτοπαθή σύφιλη και εξανθήματα ή έλκη στη δευτεροπαθή σύφιλη (CDC, 2023; Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023). Μάλιστα, λόγω της ποικιλίας των κλινικών εκδηλώσεων, η σύφιλη αποκαλείται «ο μεγάλος μιμητής» (Peeling et al., 2023; Tudor et al., 2022). Αυτή η νόσος έχει προσβάλει διάφορους ευάλωτους πληθυσμούς σε όλη τη διάρκεια της ιστορίας και, παρόλο που σχεδόν εξαλείφθηκε το 1998, η επίπτωσή της παρουσιάζει αύξηση από το 2000 (Mercuri et al., 2022).

Συνιστάται πάντα η εκτέλεση τεστ για τη διάκριση του HSV-1 από τον HSV-2, καθώς επηρεάζεται τόσο η πρόγνωση όσο και η αντιμετώπιση. Τα CDC συνιστούν την επιβεβαίωση της κλινικής διάγνωσης με ειδικά ανά τύπο ιολογικά και ορολογικά τεστ (Cole, 2020). Μια αξιόπιστη εργαστηριακή μέθοδος για τη διάγνωση των οξέων λοιμώξεων των γεννητικών οργάνων από HSV είναι η ανίχνευση DNA του HSV-1 και του HSV-2 μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) (Cole, 2020). Σε σχέση με το *T. pallidum*, η άμεση ανίχνευση και τα ορολογικά τεστ έχουν χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση στο εργαστήριο, καθώς αυτός ο παθογόνος παράγοντας δεν μπορεί να καλλιεργηθεί (Forrestel et al., 2020). Ωστόσο, τα ορολογικά τεστ δεν μπορούν να διακρίνουν τη σύφιλη από άλλες τρεπονηματικές λοιμώξεις λόγω της υψηλής γενετικής ομοιότητας μεταξύ των παθογόνων τρεπονημάτων (Forrestel et al., 2020). Οι τεχνικές ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων, όπως η PCR, επιτρέπουν την ανίχνευση βακτηριακού DNA σε κλινικά δείγματα κατά τα πρώτα στάδια της νόσου, προσφέροντας μια πιθανή στρατηγική για τον έλεγχο της επιδημίας της σύφιλης λόγω της υψηλής ευαισθησίας τους (Peeling et al., 2023).

3. Αρχή της διαδικασίας

Το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System έχει σχεδιαστεί για την ταυτόχρονη ποιοτική ανίχνευση DNA από ιό απλού έρπητα 1 (HSV-1), ιό απλού έρπητα 2 (HSV-2) και *Treponema pallidum* (σύφιλη) σε δείγματα επιχρισμάτων από πρωκτογεννητικές και στοματικές δερματικές βλάβες. Μετά την απομόνωση του DNA, η ταυτοποίηση του HSV-1, του HSV-2 και του *T. pallidum* πραγματοποιείται με την ενίσχυση μιας διατηρημένης περιοχής του γονιδίου γλυκοπρωτεΐνης *L UL1* του HSV-1, του γονιδίου

γλυκοπρωτεΐνης *G US4* του HSV-2 και του γονιδίου *16S rRNA* του *T. pallidum*, χρησιμοποιώντας ειδικούς εκκινητές και ανιχνευτές φθορίζουσας επισημάνσης.

Το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System βασίζεται στη δραστηριότητα 5' εξωνουκλεάσης της DNA πολυμεράσης. Κατά την ενίσχυση του DNA, αυτό το ένζυμο διασπά τον ανιχνευτή που συνδέεται με τη συμπληρωματική αλληλουχία DNA, διαχωρίζοντας τη χρωστική απόσβεσης από τον ανιχνευτή αναφοράς. Αυτή η αντίδραση δημιουργεί αύξηση στο σήμα φθορισμού που είναι ανάλογη με την ποσότητα της μήτρας-στόχου. Η μέτρηση του φθορισμού αυτού γίνεται στο BD MAX™ System.

Το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System περιέχει σε κάθε σωληνάριο όλα τα απαραίτητα στοιχεία για την δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου (ειδικοί εκκινητές/ανιχνευτές, dNTP, ρυθμιστικό διάλυμα, πολυμεράση) σε σταθεροποιημένη¹ μορφή, καθώς και έναν ενδογενή εσωτερικό μάρτυρα (EIC) (ανθρώπινο γονίδιο *RNase P*) για την παρακολούθηση της ακεραιότητας του δείγματος και της διαδικασίας εκχύλισης ή/και για την αποφυγή της αναστολής της δραστηριότητας της πολυμεράσης. Τα ανθρώπινα housekeeping γονίδια εμπλέκονται στη βασική συντήρηση των κυττάρων και, συνεπώς, αναμένεται να υπάρχουν σε όλα τα εμπύρνηνα ανθρώπινα κύτταρα και να διατηρούν σχετικά σταθερά επίπεδα έκφρασης.

Στόχος	Κανάλι	Γονίδιο
HSV-1	475/520	Γονίδιο γλυκοπρωτεΐνης <i>L UL1</i>
HSV-2	530/565	Γονίδιο γλυκοπρωτεΐνης <i>G US4</i>
<i>T. pallidum</i>	630/665	Γονίδιο <i>16S rRNA</i>
Ενδογενής εσωτερικός μάρτυρας (EIC)	585/630	<i>RNase P</i>

Πίνακας 1. Στόχος, κανάλι και γονίδια.

4. Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System περιλαμβάνει τα υλικά και τα αντιδραστήρια που περιγράφονται στον Πίνακα 2:

Αντιδραστήριο/Υλικό	Περιγραφή	Εύρος συγκεντρώσεων	Κωδικός	Ποσότητα
<i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> reaction tube	Λυοπροστατευτικά και σταθεροποιητές	±6 g/100 mL*	Σακουλάκι αλουμινίου 1E	2 σακούλες των 12 διάφανων σωληναρίων
	Τριφωσφορικό νουκλεοτίδιο (dNTPs)	±1 mM*		
	Εκκινητές και ανιχνευτές	0,2-1 nMol/μL*		
	Ένζυμα	10-100 U/αντίδραση*		
Rehydration Buffer tube	Μείγμα διαλύματος φυσιολογικού ορού	±13 mM	Σακουλάκι αλουμινίου 11	1 σακουλάκι των 24 διάφανων σωληναρίων
	Ρυθμιστικό διάλυμα (TRIS, pH)	±67 mM		

Πίνακας 2. Αντιδραστήρια και υλικά που παρέχονται στο VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System με Αρ. Κατ. 444222.

* Για τα στοιχεία σε σταθεροποιημένη μορφή, το εύρος συγκεντρώσεων είναι για μετά την επανυδάτωση.

¹ Σημειώσατε ότι οι όροι «σταθεροποιημένο» και «λυοφιλοποιημένο» χρησιμοποιούνται αδιακρίτως και ως συνώνυμα σε όλο το έγγραφο.

5. Αντιδραστήρια και εξοπλισμός που παρέχονται από τον χρήστη

Στην ακόλουθη λίστα παρουσιάζονται τα υλικά που απαιτούνται για τη χρήση, αλλά δεν περιλαμβάνονται στο VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

- Όργανο PCR σε πραγματικό χρόνο: BD MAX™ System (Κωδ.: 441916).
- BD MAX™ ExC™ TNA-3 (Κωδ.:442827 ή 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Κωδ.: 437519).
- Vortex.
- Μικροπιπέττες (ακρίβεια μεταξύ 2 και 1000 µL).
- Νερό χωρίς νουκλεάσες.
- Ρύγχη με φίλτρο.
- Γάντια μίας χρήσης χωρίς πούδρα.

Προαιρετικά:

- Τα υλικά εξωτερικού μάρτυρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέρος της διαδικασίας ποιοτικού ελέγχου των επιδόσεων της δοκιμασίας. Τα εμπορικά διαθέσιμα υλικά ελέγχου ή/και τα δείγματα που έχουν προηγουμένως χαρακτηριστεί ως θετικά ή αρνητικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εξωτερικός θετικός μάρτυρας (EPC) ή εξωτερικός αρνητικός μάρτυρας (ENC), αντίστοιχα. Η επιλογή και η επικύρωση του EPC και του ENC πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους ισχύοντες τοπικούς, κρατικούς ή/και ομοσπονδιακούς κανονισμούς και τις τυπικές διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου του εργαστηρίου. Επιπλέον, κατά τη χρήση εμπορικά διαθέσιμου υλικού ελέγχου, ο χρήστης πρέπει να ακολουθεί τις αντίστοιχες οδηγίες χρήσης.

6. Συνθήκες μεταφοράς, φύλαξης και χρήσης

- Τα κιτ μπορούν να αποσταλούν και να φυλαχτούν σε θερμοκρασίες 2-30°C έως την ημερομηνία λήξης η οποία δηλώνεται στην ετικέτα του κιτ.
- Αποφύγετε τους κραδασμούς κατά τη διάρκεια της μεταφοράς για να μη σημειωθεί διαρροή υγρού.
- Αφού ανοίξετε τα σακουλάκια αλουμινίου που περιέχουν τα σωληνάρια αντίδρασης, το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για έως και 28 ημέρες στους 2-30°C. Φυλάσσετε το φιαλίδιο μακριά από το φως.

Στον ακόλουθο πίνακα συνοψίζονται οι συνθήκες μεταφοράς, φύλαξης και χρήσης του κιτ συνολικά και του κάθε στοιχείου ξεχωριστά:

Στοιχείο	Συνθήκες μεταφοράς	Συνθήκες φύλαξης	Συνθήκες κατά τη διάρκεια της χρήσης
Ολόκληρο το <i>VIASURE HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay</i> for BD MAX™ System	2-30°C για τη διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα του κιτ.	Πριν από τη χρήση: 2-30°C για τη διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα του κιτ.	* Δείτε τις συνθήκες κατά τη διάρκεια της χρήσης κάθε στοιχείου.
<i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> reaction tube (σακουλάκι αλουμινίου 1E)		Πριν από τη χρήση: 2-30°C για τη διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα του κιτ. Αφού ανοίξετε το σακουλάκι με την πυριτική πηκτή: 2-30°C για έως και 28 ημέρες.	Θερμοκρασία δωματίου.
Rehydration Buffer tube		Πριν από τη χρήση: 2-30°C για τη διάρκεια ζωής που αναγράφεται στην ετικέτα του κιτ. Αφού ανοίξετε το σακουλάκι με την πυριτική πηκτή: 2-30°C για έως και 28 ημέρες.	Θερμοκρασία δωματίου.

Πίνακας 3. Σύνοψη των συνθηκών μεταφοράς, φύλαξης και χρήσης του *VIASURE HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay* for BD MAX™ System και κάθε στοιχείου.

7. Προφυλάξεις για τους χρήστες

- Το προϊόν προορίζεται για χρήση από ειδικευμένο και εκπαιδευμένο κλινικό εργαστηριακό προσωπικό, το οποίο έχει λάβει εξειδικευμένες οδηγίες και εκπαίδευση στις τεχνικές PCR πραγματικού χρόνου και τις *in vitro* διαγνωστικές διαδικασίες.
- Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- Οι οδηγίες χρήσης του προϊόντος VIASURE και το εγχειρίδιο χρήστη του συστήματος BD MAX™ πρέπει να διαβαστούν προσεκτικά πριν από τη χρήση του *VIASURE HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay* for BD MAX™ System. Η δοκιμασία πρέπει να εκτελεστεί εφόσον έχουν διαβαστεί και έχουν γίνει κατανοητές οι διαδικασίες, οι προφυλάξεις ασφάλειας και οι περιορισμοί που περιγράφονται στο παρόν.
- Μην χρησιμοποιείτε ληγμένα αντιδραστήρια ή/και υλικά.
- Μην χρησιμοποιείτε το κιτ εάν έχει ανοιχτεί η ετικέτα που σφραγίζει το εξωτερικό κουτί.
- Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια εάν το προστατευτικό κουτί είναι ανοιχτό ή σπασμένο κατά την άφιξη.
- Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια εάν οι προστατευτικές θήκες είναι ανοιχτές ή σπασμένες κατά την άφιξη.
- Μην χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια εάν δεν υπάρχει το αποξηραντικό ή αν είναι σπασμένο μέσα στις θήκες των αντιδραστηρίων.
- Μην αφαιρείτε το αποξηραντικό από τις θήκες αντιδραστηρίων.
- Μην χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια εάν το σακουλάκι αλουμινίου έχει ανοιχτεί ή έχει υποστεί ζημιά.
- Μην αναμιγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικά σακουλάκια ή/και κιτ ή/και παρτίδες.
- Να κλείνετε αμέσως τα προστατευτικά σακουλάκια των αντιδραστηρίων με τη σφράγιση μετά από κάθε χρήση, για να προστατεύσετε το κύριο μείγμα από το ηλιακό φως. Αφαιρέστε τυχόν πλεονάζοντα αέρα από τα σακουλάκια πριν από τη σφράγιση.
- Προστατεύετε τα αντιδραστήρια από την υγρασία. Η παρατεταμένη έκθεση σε υγρασία μπορεί να επηρεάσει τις επιδόσεις του προϊόντος.

- Για να αποφευχθεί η φθορά της ετικέτας, μην χρησιμοποιείτε το προϊόν κοντά σε διαλύτες.
- Η εμφάνιση του μείγματος της αντίδρασης σε σταθεροποιημένη μορφή, συνήθως στον πυθμένα του σωληναρίου, η οποία διαφέρει από τη συνήθη (χωρίς κωνικό σχήμα, ανομοιογενής, μικρότερο/μεγαλύτερο μέγεθος ή/και χρώμα που διαφέρει από το λευκωπό), δεν τροποποιεί τη λειτουργικότητα του τεστ.
- Βεβαιωθείτε ότι το σωληνάριο αντίδρασης και το σωληνάριο ρυθμιστικού διαλύματος επανυδάτωσης έχουν ασφαλίσει στη θέση τους κατά τη διάρκεια της φόρτωσης του στατώ BD MAX™.
- Σε περιπτώσεις κατά τις οποίες διεξάγονται άλλα τεστ PCR στην ίδια γενική περιοχή του εργαστηρίου, πρέπει να είστε ιδιαίτερα προσεκτικοί ώστε να εξασφαλίσετε ότι το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, το κιτ εκχύλισης BD MAX™ ExK™ TNA-3 και τα πρόσθετα αντιδραστήρια που απαιτούνται για τη διεξαγωγή των τεστ και το σύστημα BD MAX™ δεν έχουν επιμολυνθεί. Να αποφεύγετε πάντα την επιμόλυνση των αντιδραστηρίων από μικρόβια και ριβονουκλεάση (RNAse)/δεοξυριβονουκλεάση (DNAse). Συνιστάται η χρήση στείρων ρυγχών πιπέτας μίας χρήσης χωρίς ριβονουκλεάση (RNAse)/δεοξυριβονουκλεάση (DNAse), ανθεκτικών σε αεροζόλ ή θετικής μετατόπισης. Χρησιμοποιήστε νέο ρύγχος για κάθε δείγμα. Θα πρέπει να αλλάζετε γάντια πριν από το χειρισμό των αντιδραστηρίων και των δοχείων) (BD MAX™ PCR Cartridge).
- Για την αποφυγή μόλυνσης του περιβάλλοντος από αμπλικόνια, μην αποσυναρμολογήσετε το δοχείο BD MAX™ PCR Cartridge μετά τη χρήση. Οι δακτύλιοι στεγανοποίησης του δοχείου BD MAX™ PCR Cartridge έχουν σχεδιαστεί για την αποφυγή της μόλυνσης.
- Σχεδιάστε μια μονόδρομη ροή εργασίας. Θα πρέπει να ξεκινά από την περιοχή εκχύλισης και να συνεχίζει στην περιοχή ενίσχυσης και ανίχνευσης. Μην επιστρέφετε δείγματα, εξοπλισμό και αντιδραστήρια στην περιοχή στην οποία πραγματοποιήθηκε το προηγούμενο βήμα.
- Τηρήστε τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές. Φοράτε προστατευτικά ρούχα, χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης, γυαλιά και μάσκα. Μην τρώτε, πίνετε, καπνίζετε ή χρησιμοποιείτε καλλυντικά προϊόντα στην περιοχή εργασίας. Πλένετε τα χέρια σας μετά την ολοκλήρωση του τεστ.
- Τα δείγματα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικά μολυσματικά ή/και βιολογικώς επικίνδυνα υλικά, όπως επίσης και όλα τα αντιδραστήρια και τα υλικά που έχουν εκτεθεί στα δείγματα και ο χειρισμός τους πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους εθνικούς κανονισμούς ασφαλείας. Λάβετε τις απαραίτητες προφυλάξεις κατά τη συλλογή, τη μεταφορά, τη φύλαξη, τον χειρισμό και την απόρριψη των δειγμάτων.
- Ο χειρισμός των δειγμάτων και των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται σε θάλαμο βιολογικής ασφάλειας. Χρησιμοποιείτε μέσα ατομικής προστασίας (ΜΑΠ) που συνάδουν με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες, για τον χειρισμό των δυνητικά μολυσματικών δειγμάτων. Η διάθεση των αποβλήτων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους ισχύοντες τοπικούς και περιφερειακούς κανονισμούς.
- Συνιστάται η τακτική απολύμανση του συνήθως χρησιμοποιούμενου εξοπλισμού, ειδικά στις μικροπιπέτες και τις επιφάνειες εργασίας.
- Σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1907/2006 (REACH), για τα VIASURE Assays for BD MAX™ System δεν απαιτούνται δελτία δεδομένων ασφάλειας υλικού λόγω της ταξινόμησής τους ως μη επικίνδυνα για την υγεία και το περιβάλλον, επειδή δεν περιέχουν ουσίες ή/και μείγματα που πληρούν τα κριτήρια ταξινόμησης

κινδύνων που ισχύουν στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1272/2008 (CLP) ή που βρίσκονται σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από την τιμή που έχει καθοριστεί στον εν λόγω κανονισμό για τη δήλωσή τους. Μια δήλωση που αναφέρει ότι δεν απαιτείται δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού μπορεί να ζητηθεί από τη Certest Biotec S.L.

- Βεβαιωθείτε ότι ο ορισμός του προγράμματος τεστ PCR στο BD MAX™ System έχει γίνει ακολουθώντας τις οδηγίες της ενότητας «Πρωτόκολλο PCR» (παράμετροι εκχύλισης δειγμάτων, προσαρμοσμένοι ραβδοκωδικοί, ρυθμίσεις PCR κ.λπ.).
- Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του BD MAX™ System για πρόσθετες προειδοποιήσεις, προφυλάξεις και διαδικασίες.
- Το πιστοποιητικό ανάλυσης δεν παρέχεται μαζί με το τεχνολογικό προϊόν. Ωστόσο, μπορεί να ληφθεί από τον ιστότοπο της Certest Biotec S.L. (www.certest.es) εάν χρειαστεί.

8. Διαδικασία του τεστ

8.1. Συλλογή, μεταφορά και φύλαξη δειγμάτων

Το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System έχει δοκιμαστεί σε δείγματα επιχρισμάτων πρωκτογεννητικών και στοματικών δερματικών βλαβών που συλλέχθηκαν χρησιμοποιώντας Copan ESwab® (Copan's Liquid Amies Elution Swab) (εφεξής δείγματα φυσικών δερματικών βλαβών). Οι διαφορετικοί τύποι δειγμάτων θα πρέπει να επικυρωθούν από τον χρήστη.

Η συλλογή, φύλαξη και μεταφορά των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με συνθήκες που έχουν επικυρωθεί από τον χρήστη. Συνολικά, τα κλινικά δείγματα πρέπει να συλλέγονται και να επισημαίνονται κατάλληλα σε καθαρούς περιέκτες με ή χωρίς μέσο μεταφοράς (ανάλογα με τον τύπο του δείγματος). Μετά τη συλλογή, τα δείγματα πρέπει να τοποθετούνται σε σακούλα βιολογικού κινδύνου και να μεταφέρονται και να υποβάλλονται σε επεξεργασία το συντομότερο δυνατό, για να διασφαλίζεται η ποιότητα του τεστ. Τα δείγματα πρέπει να μεταφέρονται σε θερμοκρασία δωματίου (RT) ή σε θερμοκρασία $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ για έως και 48 ώρες, σύμφωνα με τους τοπικούς και εθνικούς κανονισμούς για τη μεταφορά παθογόνου υλικού. Για μακροπρόθεσμη μεταφορά, συνιστούμε την αποστολή σε θερμοκρασία -20°C ή χαμηλότερη². Τα δείγματα που υποβάλλονται σε μοριακά τεστ πρέπει να φυλάσσονται υπό ελεγχόμενες συνθήκες, έτσι ώστε να μην αποδομούνται τα νουκλεϊκά οξέα κατά τη διάρκεια της φύλαξης. Συνιστάται η χρήση φρέσκων δειγμάτων για το τεστ, αλλά σε περίπτωση που αυτό δεν είναι

²IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94))

δυνατό ή σε περίπτωση αναδρομικής μελέτης, τα δείγματα πρέπει να φυλάσσονται κατά προτίμηση σε θερμοκρασία -70 ή -80 °C και, ως δεύτερη επιλογή, σε θερμοκρασία -20 °C³.

Τα κλινικά δείγματα πρέπει να συλλέγονται, να μεταφέρονται και να φυλάσσονται σύμφωνα με τις κατάλληλες εργαστηριακές κατευθυντήριες οδηγίες ή/και τα εγχειρίδια πολιτικής του εργαστηρίου. Για παραδείγματα, ανατρέξτε στην κατευθυντήρια οδηγία IDSA (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94) ή 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. (English ed.)* 37, 127–134 (2019).

Σημείωση: Οι συνθήκες συλλογής, μεταφοράς και φύλαξης των δειγμάτων που υποδεικνύονται παραπάνω προτείνονται με βάση τις συστάσεις για τα δείγματα του ουρογεννητικού συστήματος που προορίζονται για την ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος, όπως εμφανίζονται στις προαναφερθείσες οδηγίες. Ωστόσο, συνιστούμε να ακολουθείτε τις εργαστηριακές κατευθυντήριες οδηγίες ή/και το εγχειρίδιο πολιτικής εργαστηρίου για την ορθή μεταφορά και συντήρηση των δειγμάτων.

Διεξήχθη μια εσωτερική μελέτη σταθερότητας δειγμάτων με το Viasure *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System χρησιμοποιώντας αρνητική μήτρα φυσικής δερματικής βλάβης στην οποία προστέθηκε ανθρώπινος ιός έρπητα 1, στέλεχος KOS (ATCC® VR-1493 κωδ. FR-310 (IRR)), ιός απλού έρπητα τύπου 2, στέλεχος MS (κωδ. 0810006CF, Zeptomatrix) και *Treponema pallidum*, στέλεχος SS14 (Washington University) σε συγκέντρωση $3 \times \text{LoD}$. Η σταθερότητα αναλύθηκε με τη χρήση τριών διαφορετικών δοκιμασιών: πολυσταδιακή αρχική σταθερότητα δειγμάτων με σταθερότητα στο SBT σε $2 \pm 2^\circ\text{C}$ και $25 \pm 2^\circ\text{C}$, αρχική σταθερότητα δειγμάτων στους $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ και σε κύκλους κατάψυξης (-80°C) - απόψυξης (25°C). Τα αποτελέσματα έδειξαν καλές επιδόσεις των δειγμάτων που φυλάσσονταν σε όλες τις συνθήκες που δοκιμάστηκαν. Συμπερασματικά, όσον αφορά την αρχική σταθερότητα δειγμάτων, τα δείγματα φυσικών δερματικών βλαβών είναι σταθερά μετά από 48 ώρες σε $2 \pm 2^\circ\text{C}$ και $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Όσον αφορά τη σταθερότητα στο SBT, τα δείγματα είναι σταθερά μετά από 7 ημέρες στο SBT σε $2 \pm 2^\circ\text{C}$ και $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (αφού έχουν παραμείνει έως και 48 ώρες σε $2 \pm 2^\circ\text{C}$ και $25 \pm 2^\circ\text{C}$ πριν από την προσθήκη στο SBT). Επιπλέον, τα δείγματα είναι σταθερά μετά από 6 μήνες φύλαξης σε $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ και για τουλάχιστον 5 κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.

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. (English ed.)* 37, 127–134 (2019).

8.2. Προετοιμασία δείγματος και εκχύλιση DNA

Εκτελέστε την προετοιμασία του δείγματος σύμφωνα με τις συστάσεις στις οδηγίες χρήσης του κιτ εκχύλισης που χρησιμοποιείται, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Χρησιμοποιώντας πιπέττα, μεταφέρετε 500 µL δείγματος σε BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube και κλείστε το σωληνάριο με πώμα διαφράγματος. Εξασφαλίστε την πλήρη ανάμειξη αναδεύοντας σε vortex το δείγμα σε υψηλή ταχύτητα για 1 λεπτό. Προχωρήστε στη λειτουργία του BD MAX™ System.

Σημείωση: Βεβαιωθείτε ότι έχετε αναδέψει το δείγμα σε vortex για μερικά λεπτά πριν από την έναρξη της εκτέλεσης. Εάν χρησιμοποιηθεί το ίδιο BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube για επανεξέταση, συνιστάται να ανακινήσετε το σωληνάριο χειροκίνητα λίγα λεπτά πριν από την έναρξη του τεστ, για να εξασφαλίσετε την κατάλληλη ομογενοποίηση του δείγματος.

Σημειώστε ότι οι διαδικασίες προετοιμασίας εκχύλισης που αφορούν συγκεκριμένες εφαρμογές πρέπει να αναπτυχθούν και να επικυρωθούν από τον χρήστη και ότι άλλα δείγματα μπορεί να απαιτούν προκατεργασία.

8.3. Πρωτόκολλο PCR

Σημείωση: Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του BD MAX™ System για αναλυτικές οδηγίες.

8.3.1. Δημιουργία προγράμματος τεστ PCR για το VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System

Σημείωση: Εάν έχετε ήδη δημιουργήσει το τεστ για το VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, μπορείτε να παραλείψετε το βήμα 8.3.1 και να μεταβείτε απευθείας στο βήμα 8.3.2.

- 1) Στην οθόνη «Run» (Εκτέλεση) του BD MAX™ System, επιλέξτε την καρτέλα «Test Editor» (Επεξεργασία τεστ).
- 2) Κάντε κλικ στο κουμπί «Create» (Δημιουργία).

Στην καρτέλα «Basic Information» (Βασικές πληροφορίες):

- 3) Στο πεδίο «Test Name» (Όνομα τεστ), δώστε ένα όνομα στο τεστ σας: δηλαδή VIASURE HHT.

Σημείωση: Το όνομα του τεστ πρέπει να είναι μοναδικό και να έχει μέγιστο αριθμό είκοσι χαρακτήρων.

- 4) Στο αναπτυσσόμενο μενού «Extraction Type» (Τύπος εκχύλισης), επιλέξτε «ExK TNA-3».
- 5) Στο αναπτυσσόμενο μενού «Master Mix Format» (Μορφή κύριου μείγματος), επιλέξτε «Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer» (Τύπος 5: συμπυκνωμένο λυοφιλοποιημένο κύριο μείγμα με ρυθμιστικό διάλυμα επανυδάτωσης).

- 6) Στο πεδίο «Sample Extraction Parameters» (Παράμετροι εκχύλισης δείγματος) επιλέξτε «User Defined» (Ορισμός από τον χρήστη) και προσαρμόστε τις τιμές των ακόλουθων παραμέτρων (Πίνακας 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Παράμετροι εκχύλισης δείγματος)	<i>Value</i> (Τιμή) (Units (μονάδες))
<i>Lysis Heat Time</i> (Χρόνος θέρμανσης λύσης)	15 (λεπτά)
<i>Lysis Temperature</i> (Θερμοκρασία λύσης)	55 (°C)
<i>Sample Tip Height</i> (Υψος άκρου δείγματος)	1600 (βήματα)
<i>Sample Volume</i> (Όγκος δείγματος)	475 (μl)
<i>Wash Volume</i> (Όγκος πλύσης)	500 (μl)
<i>Neutralization Volume</i> (Όγκος εξουδετέρωσης)	Δ/Ι
<i>DNase Heat Time</i> (Χρόνος θέρμανσης DNase)	Δ/Ι

Πίνακας 4. Παράμετροι εκχύλισης δείγματος που πραγματοποιείται με το BD MAX™ ExC™ TNA-3.

- 7) Στο πεδίο «Ct Calculation» (Υπολογισμός Ct) επιλέξτε «Call Ct at Threshold Crossing» (Ορισμός Ct στην τομή με το κατώφλιο) (προεπιλογή).
- 8) Εάν εκτελείτε λογισμικό έκδοσης 5.00 ή νεότερης και έχετε σωληνάρια για υποδοχές με ραβδοκωδικό, στο πεδίο «Custom Barcodes» (Προσαρμοσμένοι ραβδοκωδικοί) επιλέξτε την ακόλουθη διαμόρφωση:
- «Snap-In 2 Barcode» (Ραβδοκωδικός υποδοχής 2): 1E (αφορά *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* reaction tube).
 - «Snap-In 3 Barcode» (Ραβδοκωδικός υποδοχής 3): 11 (αφορά Rehydration Buffer tube).

Στην καρτέλα «PCR Settings» (Ρυθμίσεις PCR):

- 9) Στο πεδίο «PCR Settings» (Ρυθμίσεις PCR), εισαγάγετε τις ακόλουθες παραμέτρους που περιγράφονται στον Πίνακα 5: «Alias» (Ψευδώνυμο) (έως επτά αλφαριθμητικοί χαρακτήρες), «PCR Gain» (Απόδοση PCR), «Threshold» (Κατώφλιο), «Ct Min» (Ελάχ. Ct) και «Ct Max» (Μέγ. Ct).

<i>Channel</i> (Κανάλι)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>PCR Gain</i> (Απόδοση PCR)	<i>Threshold</i> (Κατώφλιο)	<i>Ct Min</i> (Ct, ελάχ.)	<i>Ct Max</i> (Ct, μέγ.)
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

Πίνακας 5. Ρυθμίσεις PCR.

Σημείωση: Συνιστάται να ορίσετε τις ελάχιστες τιμές κατωφλίου που αναφέρονται παραπάνω για κάθε κανάλι ως σημείο εκκίνησης, αλλά οι τελικές ρυθμίσεις πρέπει να καθορίζονται από τον τελικό χρήστη κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, προκειμένου να διασφαλιστεί ότι τα κατώφλια εμπίπτουν εντός της εκθετικής φάσης των καμπυλών φθορισμού και πάνω από

οποιοδήποτε σήμα υποβάθρου. Η τιμή κατωφλίου μπορεί να διαφέρει για διαφορετικά όργανα λόγω των διαφορετικών εντάσεων σήματος.

- 10) Στο πεδίο «Color compensation» (Αντιστάθμιση χρώματος), εισαγάγετε τις ακόλουθες παραμέτρους (Πίνακας 6).

		False Receiving Channel (Κανάλι ψευδούς λήψης)					
		Channel (Κανάλι)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Κανάλι διέγερσης)	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	-	

Πίνακας 6. Παράμετροι «Color compensation» (Αντιστάθμιση χρώματος).

Στην καρτέλα «Melt Settings» (Ρυθμίσεις τήξης) δεν χρειάζεται καμία ενέργεια, καθώς δεν ισχύει για αυτό το προϊόν.

Στην καρτέλα «Test Steps» (Βήματα τεστ):

- 11) Εισαγάγετε το όνομα του βήματος (έως είκοσι χαρακτήρες) και ορίστε τις ακόλουθες παραμέτρους για να καθορίσετε κάθε βήμα του πρωτοκόλλου PCR: «Profile Type» (Τύπος προφίλ), «Cycles» (Κύκλοι), «Time» (Χρόνος) και «Temperature» (Θερμοκρασία) και επιλέξτε το πεδίο «Detect» (Ανίχνευση) για να καθορίσετε το βήμα ανίχνευσης (Πίνακας 7). Κάντε κλικ στο κουμπί «Add» (Προσθήκη) για να προσθέσετε ένα νέο βήμα και επαναλάβετε τη διαδικασία μέχρι να ορίσετε όλα τα απαραίτητα βήματα.

Σημείωση: Το πεδίο «Type» (Τύπος) πρέπει να είναι κενό.

<i>Step</i> (Βήμα)	<i>Step name</i> (Όνομα βήματος)	<i>Profile Type</i> (Τύπος προφίλ)	<i>Cycles</i> (Κύκλοι)	<i>Time (s)</i> (Χρόνος (δευτ.))	<i>Temperature</i> (Θερμοκρασία)	<i>Detect</i> (Ανίχνευση)
Initial denaturation (Αρχική αποδιάταξη)	IN-denaturation	Hold	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) Αποδιάταξη και υβριδισμός/επιμήκυνση (συλλογή δεδομένων)	Annealing/ Extension	2-Temperature	45	10	95°C	-
				41	63°C	✓

Πίνακας 7. Πρωτόκολλο PCR.

Στην καρτέλα «Result Logic» (Λογική αποτελεσμάτων):

- 12) Στο πεδίο «Target» (Στόχος), δώστε ένα όνομα στον στόχο: π.χ. HSV1 (έως επτά αλφαριθμητικοί χαρακτήρες). Επαναλάβετε τα βήματα 12-15 για κάθε στόχο (π.χ. HSV2 ή TRE) ακολουθώντας τους πίνακες που αντιστοιχούν στον εκάστοτε στόχο που ορίζεται.
- 13) Κάντε κλικ στο πλαίσιο ελέγχου «Analyze» (Ανάλυση) για να συμπεριλάβετε τα επιθυμητά μήκη κύματος (κανάλια PCR) στην ανάλυση των αποτελεσμάτων του στόχου (Πίνακες 8-10).

<i>Wavelength</i> (Μήκος κύματος)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>Type</i> (Τύπος)	<i>Analyze</i> (Ανάλυση)
475/520	HSV1	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Πίνακας 8. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» (Λογική αποτελεσμάτων) για τον στόχο HSV1 (ιός απλού έρπητα 1).

<i>Wavelength</i> (Μήκος κύματος)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>Type</i> (Τύπος)	<i>Analyze</i> (Ανάλυση)
530/565	HSV2	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Πίνακας 9. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» (Λογική αποτελεσμάτων) για τον στόχο HSV2 (ιός απλού έρπητα 2).

<i>Wavelength</i> (Μήκος κύματος)	<i>Alias</i> (Ψευδώνυμο)	<i>Type</i> (Τύπος)	<i>Analyze</i> (Ανάλυση)
585/630	EIC	PCR	✓
630/665	TRE	PCR	✓

Πίνακας 10. Επιλογή καναλιών PCR στην καρτέλα «Result logic» για τον στόχο TRE (*Treponema pallidum*).

14) Κάντε κλικ στο κουμπί «Edit Logic» (Επεξεργασία λογικής).

15) Στο παράθυρο «Edit Logic» (Επεξεργασία λογικής) εμφανίζονται όλες οι συνδυασμοί τύπων αποτελεσμάτων. Για κάθε γραμμή, από το αναπτυσσόμενο μενού «Result» (Αποτέλεσμα), επιλέξτε το αποτέλεσμα που εμφανίζεται όταν πληρούνται οι συνθήκες σε αυτήν τη γραμμή, ακολουθώντας τους Πίνακες 11-13.

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	HSV1 (475/520)	EIC (585/630)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 11. Λίστα με τους συνδυασμούς τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο HSV1 (ιός απλού έρπητα 1). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	HSV2 (530/565)	EIC (585/630)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 12. Λίστα με τους συνδυασμούς τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο HSV2 (ιός απλού έρπητα 2). Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

<i>Result</i> (Αποτέλεσμα)	TRE (630/665)	EIC (585/630)
POS	Valid (Έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Valid (Έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)
NEG	Invalid (Μη έγκυρο)	Valid (Έγκυρο)
UNR	Invalid (Μη έγκυρο)	Invalid (Μη έγκυρο)

Πίνακας 13. Λίστα του συνδυασμού τύπων αποτελεσμάτων και λογικής αποτελεσμάτων για στόχο TRE (*Treponema pallidum*) target. Τα διαθέσιμα αποτελέσματα είναι POS (Θετικό), NEG (Αρνητικό) και UNR (Ανεπίλυτο).

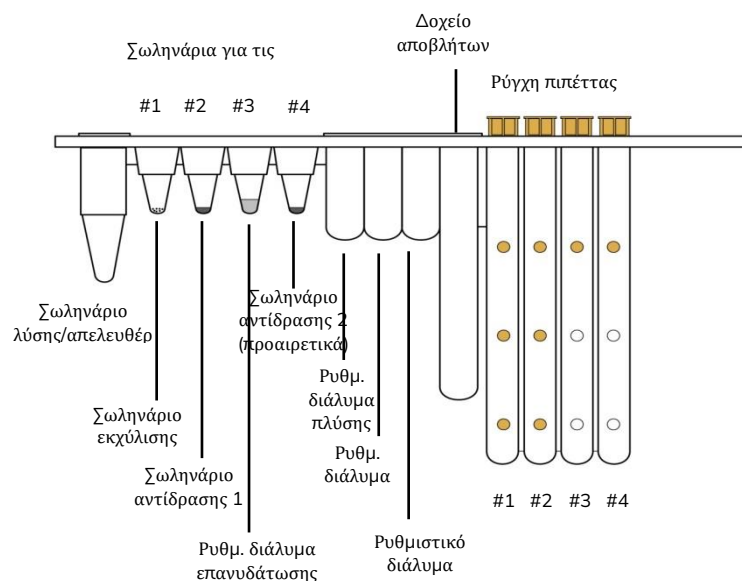
Σημείωση: Σύμφωνα με την προηγουμένως καθορισμένη μέγ. Ct. (πίνακας 5), ο τύπος αποτελέσματος για τα κανάλια HSV1 (475/520), HSV2 (530/565), EIC (585/630) και TRE (630/665) θεωρείται «Valid» (Έγκυρο) όταν η τιμή Ct που λαμβάνεται είναι ≤ 40 και «Invalid» (Μη έγκυρο) όταν η τιμή Ct που λαμβάνεται είναι > 40 .

16) Κάντε κλικ στο «Save» (Αποθήκευση) για να αποθηκεύσετε το τεστ.

8.3.2. Ρύθμιση στατώ BD MAX™

- 1) Για κάθε δείγμα προς έλεγχο, αφαιρέστε ένα Unitized Reagent Strips από το BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit. Χτυπήστε απαλά κάθε λωρίδα σε μια σκληρή επιφάνεια για να βεβαιωθείτε ότι όλα τα υγρά βρίσκονται στο κάτω μέρος των σωληναρίων και φορτώστε στα στατώ δειγμάτων του BD MAX™ System.
- 2) Αφαιρέστε τον απαιτούμενο αριθμό BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (λευκό σακουλάκι αλουμινίου) από το προστατευτικό σακουλάκι. Τοποθετήστε τα Extraction Tube(s) (λευκό αλουμινοχαρτό) στις αντίστοιχες (υποδοχή 1, χρωματική κωδικοποίηση με λευκό στο στατώ. Βλ. Εικόνα 1). Αφαιρέστε τον πλεονάζοντα αέρα και κλείστε το σακουλάκι με φερμουάρ σφράγισης.
- 3) Προσδιορίστε και διαχωρίστε τον κατάλληλο αριθμό *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* reaction tubes (σακουλάκι αλουμινίου 1E) και τοποθετήστε τα στις αντίστοιχες θέσεις στη λωρίδα (υποδοχή 2, πράσινη χρωματική κωδικοποίηση στο στατώ. Βλ. Εικόνα 1).
 - a. Αφαιρέστε τον πλεονάζοντα αέρα και κλείστε τα αλουμινένια σακουλάκια με το φερμουάρ σφράγισης.
 - b. Για τη διεξαγωγή της σωστής επανυδάτωσης, βεβαιωθείτε ότι το λυοφιλοποιημένο προϊόν βρίσκεται στο κάτω μέρος του σωληναρίου και δεν είναι προσκολλημένο στην επάνω περιοχή του σωληναρίου ή στη σφράγιση στο σακουλάκι αλουμινίου. Χτυπήστε απαλά κάθε σωληνάριο σε μια σκληρή επιφάνεια για να βεβαιωθείτε ότι όλο το προϊόν βρίσκεται στον πυθμένα του σωληναρίου.
- 4) Αφαιρέστε τον απαιτούμενο αριθμό Rehydration Buffer tubes (σακουλάκι αλουμινίου 11) και τοποθετήστε στις αντίστοιχες θέσεις στη λωρίδα (υποδοχή 3, χωρίς χρωματική κωδικοποίηση χωρίς χρώμα στο στατώ. Βλ. Εικόνα 1).
 - a. Αφαιρέστε τον πλεονάζοντα αέρα και κλείστε το σακουλάκι με φερμουάρ σφράγισης.
 - b. Για να εξασφαλιστεί η σωστή μεταφορά, βεβαιωθείτε ότι το υγρό βρίσκεται στον πυθμένα του σωληναρίου και δεν είναι προσκολλημένο στην επάνω περιοχή του σωληναρίου ή στη σφράγιση στο σακουλάκι αλουμινίου. Χτυπήστε απαλά κάθε σωληνάριο σε μια σκληρή επιφάνεια για να βεβαιωθείτε ότι όλο το ρυθμιστικό διάλυμα βρίσκεται στον πυθμένα του σωληναρίου.

Εικόνα 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) από το κιτ BD MAX™ ExK™ TNA-3.



8.3.3. Ρύθμιση οργάνου BD MAX™

- 1) Επιλέξτε την καρτέλα «Worklist» (Λίστα εργασιών) στην οθόνη «Run» (Εκτέλεση) στο λογισμικό BD MAX™ System, έκδ. 4.50A ή μεταγενέστερη.
- 2) Από το αναπτυσσόμενο μενού «Test» (Τεστ), επιλέξτε το επιθυμητό τεστ: π.χ. VIASURE HHT (εάν δεν έχετε δημιουργήσει το τεστ, βλ. Ενότητα 8.3.1).
- 3) Από το αναπτυσσόμενο μενού «Kit Lot Number» (Αριθμός παρτίδας κιτ), επιλέξτε τον κατάλληλο αριθμό παρτίδας για το κιτ (βρίσκεται στο εξωτερικό κουτί του κιτ εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε) (προαιρετικά).

Σημείωση: Οι αριθμοί παρτίδας πρέπει να έχουν οριστεί στην οθόνη «Inventory» (Απόθεμα) πριν μπορέσουν να επιλεγούν εδώ.

- 4) Εισαγάγετε τον αριθμό αναγνώρισης του Sample Buffer Tube στο πεδίο «Sample tube» (Σωληνάριο δείγματος), είτε σαρώνοντας τον ραβδοκωδικό με τον σαρωτή είτε με χειροκίνητη καταχώριση.
- 5) Συμπληρώστε το πεδίο «Patient ID» (Αναγνωριστικό ασθενούς) ή/και «Accession» (Πρόσβαση) και πατήστε το πλήκτρο Tab ή Enter. Συνεχίστε μέχρι να καταχωριστούν όλοι οι ραβδοκωδικοί Sample Buffer Tubes. Βεβαιωθείτε ότι υπάρχει ακριβής αντιστοιχία μεταξύ του αναγνωριστικού δείγματος/ασθενούς και Sample Buffer Tubes.
- 6) Τοποθετήστε τα προετοιμασμένα Sample Buffer Tube στα στατώ BD MAX™.
- 7) Φορτώστε τα στατώ στο BD MAX™ System (Το στατώ A τοποθετείται στην αριστερή πλευρά του BD MAX™ System και το στατώ B στη δεξιά πλευρά).
- 8) Τοποθετήστε τον απαιτούμενο αριθμό BD MAX™ PCR Cartridges στο BD MAX™ System.
- 9) Κλείστε τη θύρα του BD MAX™ System.
- 10) Κάντε κλικ στο «Start» (Έναρξη) για να ξεκινήσει η διαδικασία.

8.3.4. Αναφορά αποτελεσμάτων BD MAX™

- 1) Από τη γραμμή μενού, κάντε κλικ στο κουμπί «Results» (Αποτελέσματα).
- 2) Κάντε διπλό κλικ στην εκτέλεση που σας ενδιαφέρει στη λίστα ή πατήστε το κουμπί «View» (Προβολή).
- 3) Τα κουμπιά «Print» (Εκτύπωση) και «Export» (Εξαγωγή) στο κάτω μέρος της οθόνης θα ενεργοποιηθούν.

Για να εκτυπώσετε τα αποτελέσματα:

1. Κάντε κλικ στο κουμπί «Print» (Εκτύπωση).
2. Στο παράθυρο προεπισκόπησης «Print» (Εκτύπωση) της αναφοράς της εκτέλεσης, επιλέξτε: «Run Details» (Λεπτομέρειες εκτέλεσης), «Test Details» (Λεπτομέρειες τεστ) και «Plots» (Γραφήματα).
3. Κάντε κλικ στο «Print» (Εκτύπωση) για να εκτυπώσετε την αναφορά ή κάντε κλικ στο «Export» (Εξαγωγή) για να εξαγάγετε την αναφορά σε PDF σε USB.

Για να εξαγάγετε τα αποτελέσματα:

1. Κάντε κλικ στο κουμπί «Export» (Εξαγωγή) για να μεταφέρετε την αναφορά (αρχείο PDF και CSV) σε USB.
2. Όταν ολοκληρωθεί η εξαγωγή, εμφανίζεται το εικονίδιο επιτυχίας/αποτυχίας στο παράθυρο «Results Export» (Εξαγωγή αποτελεσμάτων).

9. Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Για λεπτομερή περιγραφή του τρόπου ανάλυσης δεδομένων, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του BD MAX™ System.

Η ανάλυση των δεδομένων γίνεται από το λογισμικό BD MAX™ σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Το λογισμικό BD MAX™ αναφέρει τιμές Ct και καμπύλες ενίσχυσης για κάθε κανάλι ανιχνευτή κάθε δείγματος που ελέγχεται με τον ακόλουθο τρόπο:

- Η τιμή Ct 0 υποδεικνύει ότι δεν υπολογίστηκε τιμή Ct από το λογισμικό με το καθορισμένο κατώφλιο (βλ. Πίνακα 5). Η καμπύλη ενίσχυσης του δείγματος που εμφανίζει την τιμή Ct "0" πρέπει να ελεγχθεί χειροκίνητα.
- Τιμή Ct -1 υποδηλώνει ότι δεν έχει συμβεί καμία διεργασία ενίσχυσης, ότι δεν υπολογίστηκε καμία τιμή Ct από το λογισμικό ή ότι η υπολογιζόμενη τιμή Ct είναι κάτω από το καθορισμένο κατώφλιο ή πάνω από την καθορισμένη μέγιστη τιμή Ct (τιμή αποκοπής).
- Οποιαδήποτε άλλη τιμή Ct πρέπει να ερμηνεύεται σε συσχέτιση με την καμπύλη ενίσχυσης και σύμφωνα με τη λογική αποτελεσμάτων που έχει οριστεί, ακολουθώντας τις οδηγίες ερμηνείας που περιγράφονται στον Πίνακα 14.

Ελέγξτε το σήμα του ενδογενή εσωτερικού μάρτυρα (EIC) για να επαληθεύσετε τη σωστή λειτουργία του μείγματος ενίσχυσης. Επιπλέον, ελέγξτε ότι δεν υπάρχει αναφορά για αστοχία του BD MAX™ System.

Τα αποτελέσματα θα πρέπει να διαβάζονται και να αναλύονται χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο πίνακα:

HSV-1 (όνομα στόχου: HSV1)	HSV-2 (όνομα στόχου: HSV2)	<i>T. pallidum</i> (όνομα στόχου: TRE)	Ερμηνεία αποτελεσμάτων δειγμάτων μεμονωμένου ασθενούς
POS	POS	POS	Ανιχνεύθηκε DNA HSV-1, HSV-2 και <i>Treponema pallidum</i> .
POS	POS	NEG	Ανιχνεύθηκε DNA HSV-1 και HSV-2. Δεν ανιχνεύθηκε DNA <i>Treponema pallidum</i> .
POS	NEG	POS	Ανιχνεύθηκε DNA HSV-1 και <i>Treponema pallidum</i> . Δεν ανιχνεύθηκε DNA HSV-2.
NEG	POS	POS	Ανιχνεύθηκε DNA HSV-2 και <i>Treponema pallidum</i> . Δεν ανιχνεύθηκε DNA HSV-1.
POS	NEG	NEG	Ανιχνεύθηκε DNA HSV-1. Δεν ανιχνεύθηκε DNA HSV-2 και <i>Treponema pallidum</i> .
NEG	POS	NEG	Ανιχνεύθηκε DNA HSV-2. Δεν ανιχνεύθηκε DNA HSV-1 και <i>Treponema pallidum</i> .
NEG	NEG	POS	Ανιχνεύθηκε DNA <i>Treponema pallidum</i> . Δεν ανιχνεύθηκε DNA HSV-1 και HSV-2.
NEG	NEG	NEG	Δεν ανιχνεύθηκε DNA HSV-1, HSV-2 και <i>Treponema pallidum</i> .
UNR	UNR	UNR	Ανεπίλυτο (UNR) αποτέλεσμα που λαμβάνεται παρουσία αναστολέων στην αντίδραση PCR ή όταν παρουσιαστεί κάποιο γενικό πρόβλημα (που δεν αναφέρεται από κωδικό σφάλματος) κατά τη φάση επεξεργασίας δείγματος ή/και ενίσχυσης. ¹
IND	IND	IND	Ασαφές αποτέλεσμα ανάλυσης (IND). Λόγω αστοχίας του BD MAX™ System. Αποτέλεσμα της δοκιμασίας που εμφανίζεται σε περίπτωση αστοχίας του οργάνου που συνδέεται με κωδικό σφάλματος. ²
INC	INC	INC	Ατελές αποτέλεσμα ανάλυσης (INC). Οφείλεται σε αστοχία του BD MAX™ System. Αποτέλεσμα δοκιμασίας που εμφανίζεται σε περίπτωση μη ολοκλήρωσης της εκτέλεσης. ²

Πίνακας 14. Ερμηνεία δείγματος.

10 ενδογενής εσωτερικός μάρτυρας (EIC) πρέπει να εμφανίζει σήμα ενίσχυσης με τιμή Ct ≤ 40 για να θεωρηθεί ότι πληροί τις προϋποθέσεις. Εάν απουσιάζει το σήμα για EIC ή η τιμή Ct είναι > 40, το αποτέλεσμα θεωρείται ως Ανεπίλυτο (UNR) και απαιτείται επανάληψη του τεστ. Συνιστάται η επανάληψη της δοκιμασίας από το ίδιο Sample Buffer Tube (SBT), από το ίδιο δείγμα με την προετοιμασία νέου SBT ή από νέο δείγμα (πιο συμπυκνωμένο, εάν είναι δυνατόν). Μπορεί επίσης να συμβεί το ανεπίλυτο (MHE) αποτέλεσμα να οφείλεται στην παρουσία αναστολέων στην αντίδραση PCR. Σε αυτές τις περιπτώσεις, συνιστάται η αραίωση αυτών των δειγμάτων σε αναλογία 1/10.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Τα δείγματα φυσικών δερματικών βλαβών μπορούν να φυλαχθούν χωρίς μεταφορά στο SBT για έως και 48 ώρες εάν φυλαχθούν σε θερμοκρασία 2±2°C - 25±2°C (όπως εκφράζεται στο ESwab® από την Coran). Σε περίπτωση επανάληψης του τεστ από το ίδιο SBT, συνιστάται να ανακινήσετε το SBT χειροκίνητα για να εξασφαλίσετε την κατάλληλη ομογενοποίηση του δείγματος. Σημειώστε ότι τα δείγματα φυσικών δερματικών βλαβών μπορούν να φυλαχθούν στο SBT για έως και 7 ημέρες σε θερμοκρασία 2±2°C - 25±2°C.

2 Ενδέχεται να προκύψουν ασαφή (IND) ή ατελή (INC) αποτελέσματα λόγω αστοχίας του συστήματος και να απαιτηθεί επανάληψη του τεστ. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του συστήματος BD MAX™ System για την ερμηνεία των κωδικών προειδοποίησης και σφαλμάτων.

Σημείωση: Κατά τη χρήση εξωτερικών μαρτύρων, τα αναμενόμενα αποτελέσματα είναι τα εξής: αρνητικό για ENC και θετικό για EPC (τα γνωστά θετικά δείγματα αναμένεται να είναι θετικά μόνο για τον ή τους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στο δείγμα). ENC που δίνει θετικό αποτέλεσμα τεστ υποδεικνύει συμβάν επιμόλυνσης ή σφάλμα στον χειρισμό του δείγματος. EPC που δίνει αρνητικό αποτέλεσμα υποδεικνύει πρόβλημα στον χειρισμό/την προετοιμασία του δείγματος. Ελέγξτε την τεχνική χειρισμού/προετοιμασίας του δείγματος. Όταν παρουσιαστεί αποτυχία του εξωτερικού μάρτυρα, απαιτείται επανάληψη του τεστ.

Σε περίπτωση συνεχών αμφίσημων αποτελεσμάτων, συνιστάται να ελέγξετε τις οδηγίες χρήσης και τη διαδικασία εκχύλισης που χρησιμοποιεί ο χρήστης, για να επιβεβαιώσετε την ορθή εκτέλεση κάθε βήματος qPCR και των αντίστοιχων παραμέτρων, καθώς και να ελέγξετε το σιγμοειδές σχήμα της καμπύλης και την ένταση του φθορισμού.

Τα αποτελέσματα του τεστ θα πρέπει να αξιολογούνται από έναν επαγγελματία υγείας στο πλαίσιο του ιατρικού ιστορικού, των κλινικών συμπτωμάτων και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων.

10. Περιορισμοί του τεστ

- Τα αποτελέσματα του τεστ θα πρέπει να αξιολογούνται από έναν επαγγελματία υγείας στο πλαίσιο του ιατρικού ιστορικού, των κλινικών συμπτωμάτων και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων.
- Παρόλο που η δοκιμασία μπορεί να χρησιμοποιηθεί με άλλους τύπους δειγμάτων, έχει επικυρωθεί μόνο με επιχρίσματα από δερματικές βλάβες της πρωκτογεννητικής και της στοματικής περιοχής.
- Για την ορθή εκτέλεση του τεστ, το λυοφιλοποιημένο προϊόν πρέπει να βρίσκεται στο κάτω μέρος του σωληναρίου και να μην είναι προσκολλημένο στην επάνω περιοχή του σωληναρίου ή στη σφράγιση στο σακουλάκι αλουμινίου. Χτυπήστε απαλά κάθε σωληνάριο σε μια σκληρή επιφάνεια για να βεβαιωθείτε ότι όλο το προϊόν βρίσκεται στον πυθμένα του σωληναρίου.
- Ενδέχεται να παρατηρηθεί διασταυρούμενο σήμα (crosstalk) σε κενά κανάλια του BD MAX™ System εάν δεν ανιχνευθεί στόχος, επομένως κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να επιλέγονται μόνο τα κανάλια στα οποία ανιχνεύονται στόχοι. Για οποιαδήποτε ερώτηση, επικοινωνήστε στη διεύθυνση viasuresupport@certest.es.
- Η ποιότητα του τεστ εξαρτάται από την ποιότητα του δείγματος: το νουκλεϊκό οξύ πρέπει να εκχυλίζεται σωστά από τα κλινικά δείγματα.
- Το τεστ αυτό είναι ποιοτικό, δηλαδή δεν παρέχει ποσοτικές τιμές και δεν υποδεικνύει τον αριθμό των υπαρχόντων μικροοργανισμών. Δεν είναι δυνατόν να συσχετιστούν οι τιμές Ct που λαμβάνονται με PCR με τη συγκέντρωση του δείγματος, καθώς εξαρτώνται από τον θερμικό κυκλοποιητή που χρησιμοποιείται και από την ίδια την εκτέλεση.
- Ενδέχεται να εντοπιστούν εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα στόχου, κάτω από το όριο ανίχνευσης, αλλά τα αποτελέσματα ενδέχεται να μην είναι δυνατόν να αναπαραχθούν.

- Πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το επιδιωκόμενο εύρος μετρήσεων της δοκιμασίας, καθώς τα δείγματα με συγκεντρώσεις πάνω ή κάτω από αυτό το εύρος μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα.
- Υπάρχει πιθανότητα για ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω διασταυρούμενης επιμόλυνσης από δείγματα HSV-1, HSV-2 ή/και *T. pallidum* που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις DNA-στόχου ή επιμόλυνσης εξαιτίας προϊόντων PCR από προηγούμενες αντιδράσεις.
- Οι συνδυασμοί ειδικών εκκινητών και ανιχνευτών για την ανίχνευση του γονιδίου *UL1 γλυκοπρωτεΐνης L* του HSV-1, του γονιδίου *US4 γλυκοπρωτεΐνης G* του HSV-2 και του γονιδίου *16S rRNA* του *T. pallidum*, που χρησιμοποιούνται στο VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, δεν παρουσιάζουν σημαντικές συνδυασμένες ομολογίες με το ανθρώπινο γονιδίωμα, την ανθρώπινη μικροχλωρίδα ή άλλους μικροοργανισμούς, που μπορεί να οδηγήσουν σε προβλέψιμα ψευδώς θετικά αποτελέσματα.
- Ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν από διάφορους παράγοντες και τους συνδυασμούς τους, όπως:
 - Ακατάλληλες μέθοδοι συλλογής, μεταφοράς, φύλαξης ή/και χειρισμού των δειγμάτων.
 - Ακατάλληλες διαδικασίες επεξεργασίας (συμπεριλαμβανομένης της εκχύλισης DNA).
 - Αποδόμηση του DNA κατά την αποστολή, τη φύλαξη ή/και την επεξεργασία του δείγματος.
 - Μεταλλάξεις ή πολυμορφισμοί σε περιοχές δέσμευσης εκκινητών ή ανιχνευτών μπορεί να επηρεάσουν την ανίχνευση νέων ή άγνωστων στελεχών HSV-1, HSV-2 ή/και *T. pallidum*.
 - Μικροβιακό φορτίο στο δείγμα κάτω από το όριο ανίχνευσης της δοκιμασίας.
 - Παρουσία αναστολέων qPCR ή άλλων τύπων ουσιών που δημιουργούν παρεμβολές. Δεν έχει αξιολογηθεί η επίδραση των εμβολίων, ορισμένων αντι-ιικών θεραπειών, αντιβιοτικών, χημειοθεραπευτικών, ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων ή αντιμυκητιασικών που χρησιμοποιούνται για την πρόληψη της λοίμωξης ή κατά τη διάρκεια της θεραπείας της λοίμωξης.
 - Η επίδραση των παρεμβαλλόμενων ουσιών έχει αξιολογηθεί μόνο για τις ουσίες που υποδεικνύονται στην ενότητα 12.5.1 (μελέτη παρεμβαλλόμενων ουσιών) αυτών των οδηγιών χρήσης. Ανατρέξτε σε αυτήν την ενότητα για να δείτε τις πιο συχνές ενδογενείς και εξωγενείς ουσίες που προκαλούν ολική ή μερική παρεμβολή στην αντίδραση (qPCR). Άλλες ουσίες που δεν αναγράφονται σε αυτήν την ενότητα θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα.
 - Μη τήρηση των οδηγιών χρήσης και της διαδικασίας της δοκιμασίας.
- Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν υποδεικνύει κατ' ανάγκη την παρουσία βιώσιμων μικροοργανισμών ή ότι οι εν λόγω μικροοργανισμοί είναι μολυσματικοί ή αποτελούν τους αιτιολογικούς παράγοντες για τα κλινικά συμπτώματα. Ωστόσο, ένα θετικό αποτέλεσμα υποδεικνύει την παρουσία αλληλουχιών-στόχων HSV-1, HSV-2 ή/και *T. pallidum*.
- Τα αρνητικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν την παρουσία DNA HSV-1, HSV-2 ή/και *T. pallidum* σε ένα κλινικό δείγμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως η μοναδική βάση για τη θεραπεία ή για άλλες αποφάσεις διαχείρισης ασθενών. Δεν έχουν προσδιοριστεί οι βέλτιστοι τύποι δειγμάτων και οι χρονικές στιγμές που αντιστοιχούν σε μέγιστα μικροβιακά επίπεδα κατά τη διάρκεια των λοιμώξεων που προκαλούνται από HSV-

1, HSV-2 ή/και *T. pallidum*. Η συλλογή πολλαπλών δειγμάτων (τύπων και χρονικών σημείων) από τον ίδιο ασθενή ενδέχεται να είναι απαραίτητη για την ανίχνευση του παθογόνου.

- Εάν τα διαγνωστικά τεστ για άλλα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα (ΣΜΝ) είναι αρνητικές και οι κλινικές παρατηρήσεις, το ιστορικό του ασθενούς και οι επιδημιολογικές πληροφορίες υποδηλώνουν ότι είναι πιθανή η λοίμωξη από HSV-1, HSV-2 ή/και *T. pallidum*, θα πρέπει να εξεταστεί το ενδεχόμενο ψευδώς αρνητικού αποτελέσματος και να συζητηθεί η επανεξέταση του ασθενούς.
- Οι τιμές φθορισμού μπορεί να διαφέρουν εξαιτίας πολλών παραγόντων όπως οι εξής: Εξοπλισμός PCR (ακόμη και του ίδιου μοντέλου), σύστημα εκχύλισης, τύπος δείγματος, προηγούμενη επεξεργασία του δείγματος κ.λπ., μεταξύ άλλων.
- Η θετική και αρνητική προγνωστική αξία είναι ιδιαίτερα εξαρτώμενες από τον επιπολασμό σε όλες τις *in vitro* διαγνωστικές εξετάσεις. Οι επιδόσεις του *VIASURE HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System μπορεί να ποικίλλουν ανάλογα με τον επιπολασμό και τον πληθυσμό που εξετάζεται.
- Σε περίπτωση ανεπίλυτων, ασαφών ή μη ολοκληρωμένων αποτελεσμάτων με το *VIASURE HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, θα χρειαστεί επανάληψη του τεστ. Ανεπίλυτα αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται στην παρουσία αναστολέων στο δείγμα ή σε λανθασμένη επανυδάτωση σωληναρίου λυοφιλοποιημένου μείγματος αντίδρασης. Εάν υπάρχει βλάβη οργάνου, θα προκύψουν Ασαφή ή Ατελή αποτελέσματα.

11. Ποιοτικός έλεγχος

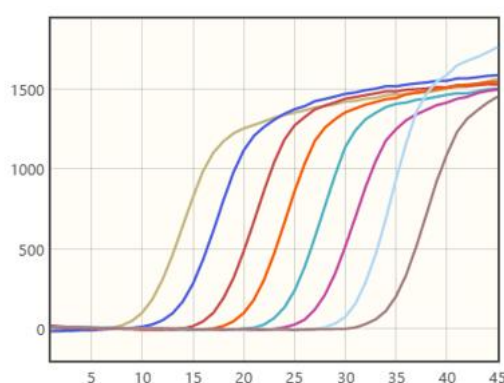
Το *VIASURE HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System περιέχει έναν ενδογενή εσωτερικό μάρτυρα (EIC) σε κάθε σωληνάριο αντίδρασης, ο οποίος επιβεβαιώνει την ορθή εκτέλεση της τεχνικής. Επιπλέον, η χρήση εξωτερικών μαρτύρων (EPC και ENC) επιτρέπει την επιβεβαίωση των επιδόσεων της δοκιμασίας. Οι εξωτερικοί μάρτυρες δεν χρησιμοποιούνται από το σύστημα BD MAX™ System για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, αλλά θεωρούνται ως δείγμα. Ο εξωτερικός θετικός μάρτυρας (EPC) προορίζεται για την παρακολούθηση μιας πιθανής αστοχίας των αντιδραστηρίων της δοκιμασίας, ενώ ο εξωτερικός αρνητικός μάρτυρας (ENC) προορίζεται για την ανίχνευση επιμόλυνσης του περιβάλλοντος ή των αντιδραστηρίων από νουκλεϊκά οξέα-στόχους.

12. Χαρακτηριστικά αναλυτικών επιδόσεων

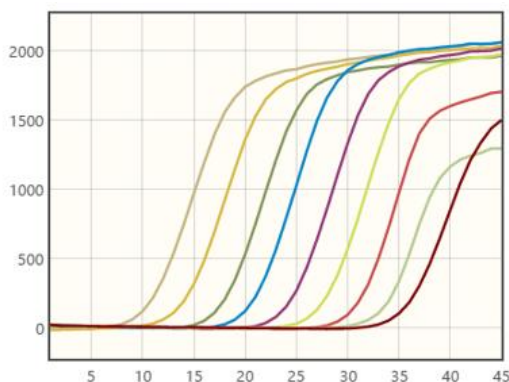
12.1. Αναλυτική γραμμικότητα

Η γραμμικότητα της δοκιμασίας προσδιορίστηκε και επιβεβαιώθηκε εξετάζοντας μια σειρά από δεκαπλάσιες αραιώσεις τεχνητής μήτρας δερματικής βλάβης⁴ (Artificial Matrix for Cutaneous Lesion, Biochemazone BZ394) που περιείχαν γνωστή συγκέντρωση (από $2E+07$ έως $2E+01$ αντίγραφα/μl) ειδικού και συνθετικού DNA που ανήκε σε HSV-1, HSV-2 και *T. pallidum*. Παρακάτω παρατίθεται ένα παράδειγμα της καμπύλης ενίσχυσης που προκύπτει από μια δοκιμασία:

Εικόνα 2. Σειρά αραιώσεων μήτρας HSV-1 ($2E+07$ έως $2E+01$ αντίγραφα ανά μl) στο BD MAX™ System (κανάλι 475/520 (FAM)).

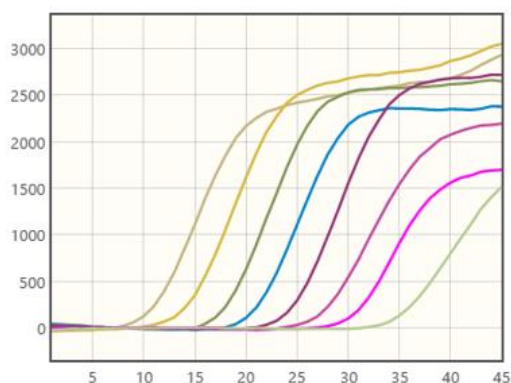


Εικόνα 3. Σειρά αραιώσεων μήτρας HSV-2 ($2E+07$ έως $2E+01$ αντίγραφα ανά μl) στο BD MAX™ System (κανάλι 530/565 (HEX)).



⁴ Λόγω της περιορισμένης διαθεσιμότητας δειγμάτων επιχρισμάτων πρωκτογεννητικών και στοματικών δερματικών βλαβών, πραγματοποιήθηκε μια μελέτη ισοδυναμίας φυσικής μήτρας έναντι τεχνητής μήτρας για την επιβεβαίωση ότι η τεχνητή μήτρα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε δοκιμασίες επικύρωσης. Επομένως, τόσο οι φυσικές όσο και οι τεχνητές μήτρες δοκιμάστηκαν και επιβεβαιώθηκε ότι είναι ισοδύναμες.

Εικόνα 4. Σειρά αραιώσεων μήτρας *T. pallidum* (2E+07 έως 2E+01 αντίγραφα ανά µl) στο BD MAX™ System (κανάλι 630/665 (Cy5)).



12.2. Ευαισθησία ανάλυσης

Η αναλυτική ευαισθησία αναφέρεται συχνά ως το όριο ανίχνευσης (LoD). Στην πράξη, οι παράμετροι LoD και όριο τυφλού (LoB) προσδιορίζονται στο πλαίσιο της αξιολόγησης της αναλυτικής ευαισθησίας.

12.2.1. Όριο τυφλού (LoB)

Για τον προσδιορισμό του «ορίου τυφλού» (LoB), πραγματοποιήθηκε δοκιμασία με μάρτυρα χωρίς μήτρα χρησιμοποιώντας τρεις παρτίδες του VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System και 24 επαναλήψεις τριών τύπων δειγμάτων: αρνητικά φυσικά δείγματα δερματικών βλαβών, τεχνητή μήτρα δερματικής βλάβης και νερό απαλλαγμένο από RNase/DNase.

Επαληθεύθηκε η απουσία σήματος στα κανάλια FAM, HEX και Cy5, καθώς και η παρουσία σήματος για τον ενδογενή εσωτερικό μάρτυρα (EIC) στο κανάλι ROX στην περίπτωση αρνητικής μήτρας (φυσικής ή προσομοιωμένης μήτρας δερματικής βλάβης). Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα που ελήφθησαν επιβεβαίωσαν ότι το προϊόν δεν παράγει μη ειδικές ενισχύσεις στις διάφορες μήτρες που δοκιμάστηκαν.

12.2.2. Όριο ανίχνευσης (LoD)

Το όριο ανίχνευσης (LoD) του VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System αναλύθηκε με τρεις παρτίδες χρησιμοποιώντας φυσικά δείγματα δερματικών βλαβών. Τα στελέχη αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ανθρώπινος ιός έρπητα 1, στέλεχος KOS (ATCC® VR-1493, κωδ. FR-310 (IRR)), ιός απλού έρπητα τύπου 2, στέλεχος MS (κωδ. 0810006CF (Zeptomatrix)) και *Treponema pallidum*, στέλεχος SS14 (Washington University). Συμπερασματικά, το VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System εμφάνισε LoD 2,52E+02 TCID50/ml για HSV-1, 6,30E+00 TCID50/ml για HSV-2 και 6,60E+03 κύτταρα/ml για *T. pallidum*, με ποσοστό θετικών αποτελεσμάτων $\geq 95\%$, σε φυσικά δείγματα δερματικών βλαβών.

12.3. Εύρος μέτρησης

Το εύρος μέτρησης της δοκιμασίας προσδιορίστηκε εξετάζοντας μια σειρά από δεκαπλάσιες αραιώσεις που περιείχαν γνωστή συγκέντρωση ειδικού DNA που ανήκε σε HSV-1, HSV-2 και *T. pallidum*. Τα αποτελέσματα επέτρεψαν την επιβεβαίωση της σωστής ανίχνευσης του στόχου από 2E+07 έως 2E+00 αντίγραφα/μl για τους στόχους HSV-1 και *T. pallidum* και από 2E+07 έως 2E+01 αντίγραφα/μl για τον στόχο HSV-2.

Συμπερασματικά, το εύρος μέτρησης του VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System προσδιορίστηκε με επιτυχία, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα, ακριβή και αναπαραγώγιμα αποτελέσματα σε ένα ευρύ φάσμα ιικών/βακτηριακών φορτίων, επιβεβαιώνοντας τη χρησιμότητά του σε διάφορα κλινικά διαγνωστικά σενάρια.

12.4. Ακρίβεια

12.4.1. Ορθότητα

Η ορθότητα του VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System αξιολογήθηκε με την ανάλυση του παρακάτω υλικού αναφοράς με προσθήκη μήτρας δερματικής βλάβης.

1. Συνθετικά θραύσματα DNA

- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο γλυκοπρωτεΐνης *L UL1* του HSV-1: HSV1.XPC, κανάλι FAM.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο γλυκοπρωτεΐνης *G US4* του HSV-2: HSV2.XPC, κανάλι HEX.
- Συνθετικό θραύσμα DNA για το γονίδιο *16S rRNA* του *T. pallidum*: TREXPC, κανάλι Cy5.

Όλα τα συνθετικά θραύσματα DNA ανιχνεύθηκαν σωστά στο κατάλληλο κανάλι.

2. American Type Culture Collection (ATCC®)

Εξωτερική αναφορά	Μικροοργανισμός	Όνομα προϊόντος	Ποικιλία	Αποτέλεσμα
VR-1493	Ιός απλού έρπητα 1	Human herpesvirus 1	Στέλεχος KOS	Ανιχνεύθηκε
VR-260	Ιός απλού έρπητα 1	Human Herpesvirus 1	Στέλεχος HF	Ανιχνεύθηκε
VR-539	Ιός απλού έρπητα 1	Human Herpesvirus 1	Στέλεχος MacIntyre	Ανιχνεύθηκε
VR-733	Ιός απλού έρπητα 1	Human Herpesvirus 1	Στέλεχος F	Ανιχνεύθηκε
VR-3393	Ιός απλού έρπητα 2	Human Herpesvirus 2	Στέλεχος G	Ανιχνεύθηκε
VR-1779	Ιός απλού έρπητα 2	Human Herpesvirus 2	Στέλεχος ATCC-2011-2	Ανιχνεύθηκε
BAA-2642SD	<i>Treponema pallidum</i>	Quantitative Synthetic <i>Treponema pallidum</i> DNA	Δ/Ι	Δεν ανιχνεύθηκε

Πίνακας 15. Υλικό αναφοράς από American Type Culture Collection (ATCC®).

Όλα τα στελέχη από ATCC ανιχνεύθηκαν σωστά στο κατάλληλο κανάλι και ο EIC εμφάνισε ενίσχυση με τιμή Ct ≤40, με εξαίρεση το Quantitative Synthetic *Treponema pallidum* DNA (κωδικός ATCC BAA-2642SD). Αυτό το

συνθετικό DNA περιλαμβάνει θραύσματα των γονιδίων *polA*, *23S*, *16S*, *flaA*, *47kDa* protein και *bmp*, ωστόσο, η απουσία ανίχνευσης σε πολύ υψηλή συγκέντρωση (έως $4,70E+04$ αντίγραφα/μl) χρησιμοποιώντας το VIASURE Assay υποδηλώνει ότι η περιοχή-στόχος της εντός του γονιδίου *16S* δεν περιλαμβάνεται στο συνθετικό DNA από ATCC. Επομένως, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υλικό αναφοράς.

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

Εξωτερική αναφορά	Μικροοργανισμός	Όνομα προϊόντος	Ποικιλία	Αποτέλεσμα
16/368	Ιός απλού έρπητα 1	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1)	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
17/122	Ιός απλού έρπητα 2	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2)	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε

Πίνακας 16. Υλικό αναφοράς από National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC).

Όλα τα στελέχη από NIBSC ανιχνεύθηκαν σωστά στο αντίστοιχο κανάλι και ο EIC εμφάνισε ενίσχυση με τιμή Ct ≤ 40 .

4. Υλικό μάρτυρα

Εξωτερική αναφορά	Προέλευση	Μικροοργανισμός	Όνομα προϊόντος	Ποικιλία	Αποτέλεσμα
0810006CF	ZeptoMetrix	Ιός απλού έρπητα 2	Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV-2)	Στέλεχος MS	Ανιχνεύθηκε
MBC109	Vircell S.L.	<i>Treponema pallidum</i>	AMPLIRUN® TREPONEMA PALLIDUM DNA CONTROL	Δ/Ι	Ανιχνεύθηκε
Δ/Ι	University of Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	Στέλεχος Nichols	Ανιχνεύθηκε
Δ/Ι	University of Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	Στέλεχος SS14	Ανιχνεύθηκε

Πίνακας 17. Υλικό ελέγχου για HSV-2 και *T. pallidum* από Vircell S.L, ZeptoMetrix και University of Washington.

Όλα τα στελέχη και το υλικό αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν ανιχνεύθηκαν σωστά στο κατάλληλο κανάλι και ο EIC εμφάνισε ενίσχυση με τιμή Ct ≤ 40 .

12.4.2. Πιστότητα

Για τον προσδιορισμό της πιστότητας του VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, πραγματοποιήθηκαν προσδιορισμοί εντός δοκιμασίας (επαναληψιμότητα), μεταξύ δοκιμασιών, μεταξύ παρτίδων και μεταξύ εξοπλισμών (αναπαραγωγιμότητα) με τεχνητή μήτρα δερματικής βλάβης με προσθήκη από στελέχη αναφοράς ανθρώπινου ιού έρπητα 1, στέλεχος KOS (ATCC® VR-1493, κωδ. FR-310 (IRR)), ιού απλού έρπητα τύπου 2, στέλεχος MS (κωδ. 0810006CF (Zeptomatrix)) και *Treponema pallidum*, στέλεχος SS14 (Washington University).

Ενδοδοκιμασιακή

Η ενδοδοκιμασιακή ακρίβεια προσδιορίστηκε με την ανάλυση έξι επαναλήψεων όλων των δειγμάτων στην ίδια εκτέλεση, χρησιμοποιώντας το VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Μια σύνοψη των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Στόχος	Κανάλι	Τύπος δείγματος	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
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	31,08	0,40	1,28
		5 x LoD	32,00	0,24	0,74
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	30,42	0,15	0,48
		5 x LoD	29,90	0,48	1,60
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I
<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
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I

Πίνακας 18. Αποτελέσματα ενδοδοκιμασιακή για το VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου. ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, NEG = αρνητικό, Δ/I = δεν ισχύει.

Διαδοκιμασιακή

Η διαδοκιμασιακή προσδιορίστηκε με την ανάλυση τεσσάρων επαναλήψεων των διαφορετικών δειγμάτων σε τρεις διαφορετικές ημέρες από τρεις διαφορετικούς χειριστές, χρησιμοποιώντας το VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Μια σύνοψη των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Στόχος	Κανάλι	Τύπος δείγματος	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
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	33,83	0,56	1,66
		5 x LoD	32,68	0,48	1,48
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	29,82	0,43	1,43
		5 x LoD	29,94	0,40	1,33
		Αρνητικός μάρτυρας	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
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I

Πίνακας 19. Αποτελέσματα διαδοκιμασιακή για το VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου, ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, NEG = αρνητικό, Δ/I = δεν ισχύει.

Διαπαρτιδιακή

Οι τιμές διαπαρτιδιακή προσδιορίστηκαν με έξι επαναλήψεις των διαφορετικών δειγμάτων χρησιμοποιώντας τρεις παρτίδες του VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Μια σύνοψη των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Στόχος	Κανάλι	Τύπος δείγματος	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
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	30,98	0,86	2,78
		5 x LoD	32,70	0,58	1,79
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	30,04	0,57	1,89
		5 x LoD	30,26	0,56	1,86
		Αρνητικός μάρτυρας	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
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I

Πίνακας 20. Αποτελέσματα διαπαρτιδιακή για το VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου, ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, NEG = αρνητικό, Δ/I = δεν ισχύει.

Διαεξοπλιστική

Οι τιμές διαεξοπλιστική προσδιορίστηκαν με τέσσερις επαναλήψεις των ίδιων δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό εντός δοκιμασίας, μεταξύ δοκιμασιών και μεταξύ παρτίδων, χρησιμοποιώντας το VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System και τρία διαφορετικά BD MAX™ System. Μια σύνοψη των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Στόχος	Κανάλι	Τύπος δείγματος	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
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	33,56	0,80	2,39
		5 x LoD	32,65	0,42	1,28
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	29,51	0,77	2,59
		5 x LoD	29,23	0,39	1,33
		Αρνητικός μάρτυρας	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
		Αρνητικός μάρτυρας	NEG	Δ/I	Δ/I

Πίνακας 21. Αποτελέσματα διαεξοπλιστική του VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = κύκλος κατωφλίου. ($\bar{x}$) = αριθμητικός μέσος Ct, (σ) = τυπική απόκλιση, (CV %) = συντελεστής διακύμανσης, NEG = αρνητικό, Δ/I = δεν ισχύει.

Συμπερασματικά, η μελέτη πιστότητας επιβεβαίωσε τις αξιόπιστες επιδόσεις και τη συνέπεια του VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

12.4.3. Ακρίβεια

Το πείραμα ακρίβειας διεξήχθη μέσω της ανάλυσης πάνελ από προγράμματα εξωτερικής αξιολόγησης ποιότητας (EQA). Αναλύθηκαν δείγματα που περιείχαν HSV-1, HSV-2 ή *T. pallidum*, μεταξύ άλλων μικροοργανισμών μη-στόχων. Όλα τα αποτελέσματα των τεστ, που παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα, συγκρίθηκαν με τις τελικές αναφορές που παρείχαν οι διοργανωτές των προγραμμάτων EQA.

Στόχος	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)

Πίνακας 22. Αποτελέσματα ακρίβειας χρησιμοποιώντας το VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (ORA) = συνολική συμφωνία, (TP) = αληθώς θετικό, (TN) = αληθώς αρνητικά, (FP) = ψευδώς θετικά, (FN) = ψευδώς αρνητικά, (PPA) = ποσοστό συμφωνίας θετικών, (NPA) = ποσοστό συμφωνίας αρνητικών.

Συμπερασματικά, το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System παρέχει υψηλή ακρίβεια στην ανίχνευση του DNA των HSV-1, HSV-2 και *T. pallidum*, με εξαιρετικές τιμές NPA και PPA σε όλα τα στελέχη που εξετάστηκαν.

12.5. Αναλυτική ειδικότητα και αντιδραστικότητα

Η αναλυτική ειδικότητα και η αναλυτική αντιδραστικότητα αξιολογήθηκαν για το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System *in silico* και πειραματικά, χρησιμοποιώντας διαφορετικά υλικά εκκίνησης, όπως πιστοποιημένα στελέχη αναφοράς, πιστοποιημένα RNA/DNA αναφοράς και υλικό από τα προγράμματα EQA.

12.5.1. Αναλυτική ειδικότητα

Η αναλυτική ειδικότητα αφορά την ικανότητα της δοκιμασίας να ανιχνεύει τον προβλεπόμενο στόχο. Υπάρχουν τέσσερα στοιχεία που πρέπει να ληφθούν υπόψη για την αναλυτική ειδικότητα: η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα, η συλλοίμωξη, οι παρεμβολές από μικροβιακούς παράγοντες και οι παρεμβολές από ουσίες. Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα μπορεί να εμφανιστεί όταν υπάρχουν γενετικά συγγενείς μικροοργανισμοί σε ένα δείγμα ασθενούς, ενώ μικροβιακές παρεμβολές μπορεί να συμβούν εάν αυτοί οι γενετικά συγγενείς μικροοργανισμοί αλλοιώσουν την ανίχνευση των μικροοργανισμών-στόχων όταν υπάρχουν. Ομοίως, η μελέτη συλλοίμωξης έχει ως στόχο να αξιολογήσει εάν οι μικροοργανισμοί-στόχοι σε διαφορετικές συγκεντρώσεις στο ίδιο δείγμα θα μπορούσαν να αλλοιώσουν την ανίχνευση μεταξύ τους. Τέλος, παρεμβολές από ουσίες μπορεί να συμβούν εάν η παρουσία συγκεκριμένων ουσιών που ενδέχεται να υπάρχουν στη μήτρα του δείγματος επηρεάσει τις επιδόσεις της qPCR.

Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα: *in silico* ανάλυση

Η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας αλληλουχίες αναφοράς των παθογόνων από την NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) και με εργαλεία ευθυγράμμισης όπως το BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) και εσωτερικό λογισμικό βιοπληροφορικής ανάλυσης.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται αφορούν μόνο αλληλουχίες με ποσοστό ομολογίας μεγαλύτερο από 80%. Οι ευθυγραμμισμένες αλληλουχίες με ποσοστό ευθυγράμμισης ομολογίας μικρότερο από 80% θεωρήθηκαν απίθανο να ανιχνευθούν.

Treponema pallidum

Όλες οι αλληλουχίες που αναλύθηκαν είχαν ποσοστό ομολογίας κάτω από 80% με το σύνολο εκκινητών και ανιχνευτών *T. pallidum*.

Η ανάλυση διασταυρούμενης αντιδραστικότητας *in silico* αποκάλυψε 100% ομολογία με το *Treponema paraluisuniculi* (Taxid ID: 53435 και 545766). Ωστόσο, σύμφωνα με μια αναζήτηση στο NCBI, αυτές οι

αλληλουχίες βρέθηκαν να είναι ετεροτυπικές ή ταξονομικά συνώνυμες και επίσης αντιστοιχούν στο *Treponema pallidum*.

Επομένως, καμία από τις αλληλουχίες που αναλύθηκαν, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που παρουσιάζουν ομολογία μεγαλύτερη από 80%, δεν θα μπορούσε να επηρεάσει την ορθή ανίχνευση του *Treponema pallidum*.

Ανθρώπινος alphaherpesvirus 1

Όλες οι αλληλουχίες που αναλύθηκαν παρουσίαζαν ομολογία κάτω από 80% με το σύνολο εκκινητών και ανιχνευτών HSV-1.

Η ανάλυση διασταυρούμενης αντιδραστικότητας *in silico* αποκάλυψε 98,33% ομολογία με τον ιό έρπητα alpha-1 του χιμπατζή, στέλεχος 105640 (Taxid ID: 332937). Ο ξενιστής αυτού του στελέχους alphaherpesvirus είναι ο χιμπατζής (*Pan troglodytes*). Οι ιοί του έρπητα είναι εξαιρετικά εξειδικευμένοι ως προς τον ξενιστή και μοιράζονται μια μακρά συγχρονική εξέλιξη με τους ξενιστές τους. Αυτός ο ιός δεν έχει ταυτοποιηθεί σε ανθρώπους και δεν θεωρείται ζωνοεπιδημιολογικός ιός προς το παρόν, επομένως δεν παρεμβαίνει στην ανίχνευση του HSV-1.

Επομένως, καμία από τις αλληλουχίες που αναλύθηκαν, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που παρουσιάζουν ομολογία μεγαλύτερη από 80%, δεν μπορεί να επηρεάσει τη σωστή ανίχνευση του HSV-1.

Ανθρώπινος alphaherpesvirus 2

Όλες οι αλληλουχίες που αναλύθηκαν παρουσίαζαν ομολογία κάτω από 80% με το σύνολο εκκινητών και ανιχνευτών HSV-2.

Συμπερασματικά, οι σχεδιασμοί των στόχων HSV-1, HSV-2 και *T. pallidum* target designs of VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System δεν πρέπει να προκαλούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα στην ανίχνευση *Treponema pallidum*, ανθρώπινου Alphaherpesvirus 1 και ανθρώπινου Alphaherpesvirus 2 όταν υπάρχουν άλλοι μικροοργανισμοί.

Αναλυτική ειδικότητα: εργαστηριακές δοκιμές

Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα: εργαστηριακές δοκιμές

Η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα του VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System επιβεβαιώθηκε μέσω της ανάλυσης ενός πάνελ διαφορετικών μικροοργανισμών που σχετίζονται με συμπτώματα σεξουαλικά μεταδιδόμενων λοιμώξεων ή είναι περιβαλλοντικά και φυλογενετικά σημαντικοί μικροοργανισμοί. Όπου ήταν δυνατόν και υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα συγκέντρωσης, οι μικροοργανισμοί παρεμβολής αξιολογήθηκαν σε ιατρικά συναφή επίπεδα (συνήθως 1E+05 – 1E+06 cfu (μονάδα σχηματισμού αποικίας)/ml για τα βακτήρια/μύκητες και 1E+04 – 1E+05 pfu (μονάδα σχηματισμού πλάκας)/ml για τους ιούς).

Δεν ανιχνεύθηκε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα μεταξύ των ακόλουθων μικροοργανισμών που εξετάστηκαν, παρά μόνο για τους στοχευόμενους μικροοργανισμούς.

Έλεγχος διασταυρούμενης αντιδραστικότητας					
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	-	<i>Haemophilus influenzae</i> στέλεχος L-378	-	<i>Listeria monocytogenes</i> ορότυπος 4b	-
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius 1863 CECT 2071	-	Ηπατίτιδα A HM175/18f	-	Ιός ευλογιάς των πιθήκων	-
<i>Atopobium vaginae</i>	-	Herpes Simplex Virus type-1 1st WHO IS for HSV-1	+	<i>Mycoplasma genitalium</i> στέλεχος M30	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	Herpes Simplex Virus type-2 1st WHO IS for HSV-2	+	<i>Mycoplasma hominis</i> στέλεχος LBD-4	-
<i>Candida albicans</i>	-	Ιός έρπητα 2 στέλεχος MS	+	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> στέλεχος NCTC 8375 [B 5025]	-
<i>Candida glabrata</i>	-	Ανθρώπινος ιός έρπητα 1 στέλεχος HF	+	<i>Neisseria meningitidis</i> στέλεχος M2091	-
<i>Candida krusei</i> Issatchenkia orientalis Kudryavtsev 1960 CECT 1433	-	Ανθρώπινος ιός έρπητα 1 στέλεχος F	+	<i>Proteus mirabilis</i> NCDC 2059-70	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	Ανθρώπινος ιός έρπητα 1 στέλεχος KOS (ATCC-VR-1493)	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> στέλεχος RH 815	-
<i>Candida tropicalis</i> (Castellani) Berkhout 1923 CECT 1005	-	Ανθρώπινος ιός έρπητα 1 στέλεχος MacIntyre	+	<i>Serratia marcescens</i> υποείδος marcescens	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> ορότυπος E	-	Ανθρώπινος ιός έρπητα 2 στέλεχος ATCC-2011-2	+	<i>Staphylococcus aureus</i> υποείδος Aureus, στέλεχος Seattle 1945	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	Ανθρώπινος ιός έρπητα 2 στέλεχος G	+	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> στέλεχος 810-2	-
<i>Enterobacter cloacae</i> υποείδος cloacae	-	Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων 16	-	<i>Treponema pallidum</i> DNA Control, Vircell	+
<i>Enterococcus faecalis</i> στέλεχος CECT 8120	-	Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων 18	-	<i>Treponema pallidum</i> στέλεχος Nichols	+
<i>Enterococcus faecium</i> vanA, στέλεχος CECT 5253	-	<i>Klebsiella oxytoca</i> στέλεχος MIT 10-5243	-	<i>Treponema pallidum</i> στέλεχος SS14	+
Epstein-Barr Virus 1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> στέλεχος UHKPC57	-	<i>Trichomonas vaginalis</i> , QCMD TV18S-01	-
<i>Escherichia coli</i> στέλεχος	-	<i>Listeria innocua</i>	-	<i>Ureaplasma urealyticum</i> T-στέλεχος 960 (CX8) [960, CIP 103755, NCTC 10177]	-
<i>Gardnerella vaginalis</i> 594 [NCTC 10287]	-	<i>Listeria ivanovii</i> υποείδος londoniensis	-	Ιός Varicella zoster στέλεχος Ellen	-
<i>Haemophilus ducreyi</i> κατηγορία I	-	<i>Listeria monocytogenes</i> ορότυπος 1/2	-		

Πίνακας 23. Παθογόνοι μικροοργανισμοί αναφοράς που περιλαμβάνονται στη δοκιμασία διασταυρούμενης αντιδραστικότητας. Το αποτέλεσμα +/- αναφέρεται στο θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα που λαμβάνεται στα διαφορετικά κανάλια ανάλογα με τον στόχο που ανιχνεύεται. Σε περίπτωση που ένας μικροοργανισμός που εξετάστηκε αποτελεί έναν από τους στόχους που ανιχνεύονται από το τεχνολογικό προϊόν, λαμβάνεται ένα θετικό αποτέλεσμα στο αντίστοιχο κανάλι, αλλά ένα αρνητικό αποτέλεσμα στα υπόλοιπα κανάλια.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα των δοκιμασιών διασταυρούμενης αντιδραστικότητας υποδεικνύουν υψηλή ειδικότητα για το VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο για ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Δεδομένου ότι δεν παρατηρήθηκαν μη ειδικές ενισχύσεις με άλλους συγγενείς μικροοργανισμούς, αυτό υποδηλώνει ότι το τεχνολογικό προϊόν είναι σε θέση να διακρίνει με ακρίβεια τους στόχους.

Μελέτη συλλοίμωσης

Διεξήχθη μια μελέτη συλλοίμωσης χρησιμοποιώντας ανθρώπινο ιό έρπητα 1, στέλεχος KOS (ATCC® VR-1493, κωδ. FR-310 (IRR)), ιό απλού έρπητα τύπου 2, στέλεχος MS (κωδ. 0810006CF (Zeptomatrix)) και *Treponema pallidum*, στέλεχος SS14 (Washington University) σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, για να επιβεβαιωθεί ότι η παρουσία οποιουδήποτε από αυτούς, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση, δεν μεταβάλλει την ανίχνευση μεταξύ τους. Αναλύθηκαν τρία φυσικά δείγματα αρνητικής μήτρας δερματικής βλάβης, στα οποία προστέθηκε το υλικό αναφοράς, ένα στόχος σε χαμηλή συγκέντρωση ($3 \times \text{LoD}$) και οι υπόλοιποι στόχοι σε πολύ υψηλή συγκέντρωση, συνήθως $1\text{E}+04 - 1\text{E}+05$ μονάδες/ml, εάν ήταν δυνατόν.

Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι η ανίχνευση των στοχευόμενων μικροοργανισμών δεν μεταβάλλεται όταν η ανάλυση διενεργείται με το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System σε συλλοίμωση σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Μελέτη παρεμβαλλόμενων μικροβιακών παραγόντων

Πραγματοποιήθηκε μια μελέτη μικροβιακής παρεμβολής για την ανάλυση των πιθανών παρεμβαλλόμενων μικροβιακών παραγόντων για το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Ένα πάνελ διαφορετικών κλινικά, περιβαλλοντικά και φυλογενετικά συναφών μικροοργανισμών δοκιμάστηκε παρουσία στόχων HSV-1, HSV-2 και *T. pallidum* χρησιμοποιώντας αρνητική φυσική μήτρα δερματικής βλάβης στην οποία προστέθηκε ανθρώπινος ιός έρπητα 1, στέλεχος KOS (ATCC® VR-1493, κωδ. FR-310 (IRR)), ιός απλού έρπητα τύπου 2, στέλεχος MS (κωδ. 0810006CF (Zeptomatrix)) και *Treponema pallidum*, στέλεχος SS14 (Washington University). Όπου ήταν δυνατόν και υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα συγκέντρωσης, οι ιοί, τα βακτήρια ή/και οι μύκητες παρεμβολής αξιολογήθηκαν σε ιατρικά συναφή επίπεδα (συνήθως $1\text{E}+05 - 1\text{E}+06$ cfu/ml για τα βακτήρια/μύκητες και $1\text{E}+04 - 1\text{E}+05$ pfu/ml για τους ιούς).

Ο θετικός μάρτυρας μήτρας (Positive Matrix Control, PMC) και ο αρνητικός μάρτυρας μήτρας (Negative Matrix Control, NMC) περιλαμβάνονται ως μάρτυρες στο τεστ. Το PMC αντιστοιχεί στην αρνητική μήτρα με προσθήκη ειδικών στελεχών-στόχων χωρίς κανέναν παρεμβαλλόμενο μικροβιακό παράγοντα, ενώ το NMC αντιστοιχεί στην αρνητική μήτρα χωρίς κανέναν παρεμβαλλόμενο μικροβιακό παράγοντα.

Όνομα μικροοργανισμού	Συγκέντρωση που εξετάστηκε	Αποτέλεσμα
PMC	Δ/Ι	N.I
NMC	Δ/Ι	N.I
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Μη διαθέσιμο	N.I
<i>Atopobium vaginae</i>	$4,52\text{E}+03$ cfu/μl	N.I
<i>Candida albicans</i>	$4,18\text{E}+03$ cfu/μl	N.I
<i>Candida glabrata</i>	$2,46\text{E}+03$ cfu/μl	N.I
<i>Candida parapsilosis</i>	Μη διαθέσιμο	N.I
<i>Candida tropicalis</i>	$3,04\text{E}+04$ cp/μl	N.I

<i>Chlamydia trachomatis</i> ορότυπος 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> κατηγορία I	1,40E+02 cp/μl	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,20E+03 cfu/μl	N.I
Ηπατίτιδα A	2,80E+03 TCID50/μl	N.I
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Μη διαθέσιμο	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Μη διαθέσιμο	N.I
<i>Listeria innocua</i>	Μη διαθέσιμο	N.I
<i>Listeria ivanovii</i> υποείδ. londoniensis	Μη διαθέσιμο	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> τύπου στέλεχος	5,00E+05 cfu/ml	N.I
<i>Enterococcus faecium</i> vanA	3,50E+05 cfu/ml	N.I
Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων 16	1,00E+03 IU/μl	N.I
Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων 18	1,00E+03 IU/μl	N.I
<i>Serratia marcescens</i>	2,30E+05 cfu/ml	N.I
Ιός Varicella zoster	7,26E+04 cfu/ml	N.I
<i>Citrobacter freundii</i> τύπου στέλεχος	6,20E+02 cfu/μl	N.I
<i>Escherichia coli</i> τύπου στέλεχος	5,20E+02 cfu/μl	N.I
<i>Proteus mirabilis</i>	2,55E+01 cfu/μl	N.I
Ιός ευλογιάς των πιθήκων	1,50E+03 cp/ml	N.I

Πίνακας 24. Δοκιμασία παρεμβαλλόμενων μικροβιακών παραγόντων. N.I. = καμία παρεμβολή, (PMC) = θετικός μάρτυρας μήτρας, (NMC) = αρνητικός μάρτυρας μήτρας, (TCID50): δόση μόλυνσης κυτταροκαλλιέργειας 50%, (IU): διεθνείς μονάδες, (cfu): μονάδες σχηματισμού αποικιών, (cp): αντίγραφα, (IFU): μονάδα μόλυνσης.

Συμπερασματικά, δεν παρατηρήθηκαν παρεμβολές στην ανίχνευση του νουκλεϊκού οξέος στόχου με κανέναν από τους μικροοργανισμούς που εξετάστηκαν.

Μελέτη παρεμβαλλόμενων ουσιών

Πραγματοποιήθηκε μια μελέτη παρεμβαλλόμενων ουσιών για την αξιολόγηση της πιθανής παρεμβολής ενδογενών και εξωγενών ουσιών στο VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Συνολικά, 22 δυνητικά παρεμβαλλόμενες ουσίες προστέθηκαν στη αρνητική φυσική μήτρα δερματικής βλάβης που είχε εμπλουτιστεί με τα στελέχη αναφοράς: Ανθρώπινος ιός έρπητα 1, στέλεχος KOS (ATCC® VR-1493, κωδ. FR-310 (IRR)), ιός απλού έρπητα τύπου 2, στέλεχος MS (κωδ. 0810006CF (Zeptomatrix)) και *Treponema pallidum*, στέλεχος SS14 (Washington University) και αξιολογήθηκαν με έξι επαναλήψεις.

Ο θετικός μάρτυρας μήτρας (Positive Matrix Control, PMC) και ο αρνητικός μάρτυρας μήτρας (Negative Matrix Control, NMC) περιλαμβάνονται ως μάρτυρες στο τεστ. Το PMC αντιστοιχεί στην αρνητική μήτρα με προσθήκη ειδικών στελεχών-στόχων χωρίς παρεμβαλλόμενη ουσία, ενώ το NMC αντιστοιχεί στην αρνητική μήτρα χωρίς παρεμβαλλόμενη ουσία ή προσθήκη μικροοργανισμών/υλικού αναφοράς. Ελήφθησαν τα ακόλουθα αποτελέσματα:

Ονομασία ουσίας	Συγκέντρωση που εξετάστηκε	Αποτέλεσμα
PMC	Δ/Ι	N.I.
NMC	Δ/Ι	N.I.
Ακυκλοβίρη	6,60E-02 mg/ml	N.I.
Λευκωματίνη	1,00E+01 mg/ml	N.I.
Ολικό αίμα	1,00E+00% (κ.ό.)	N.I.
Λευκοκύτταρα/μονοκύτταρα	1,00E+06 κύτταρο/ml	N.I.
Βλεννίνη	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Clamiox (υδροκορτιζόνη)	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Neosayomol (διφαινυδραμίνη)	3,87E-02 mg/ml	N.I.
Letibalm (βάλαμο χειλιών)	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Καζεΐνη	7,00E+00 mg/ml	N.I.
Hemoal (βενζοκαΐνη)	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.
Γυναικεία ούρα	1,00E+01% (κ.ό.)	N.I.
Ανδρικά ούρα	1,00E+01% (κ.ό.)	N.I.
Κόπρανα	2,20E-01 % (κ.ό.)	N.I.
Σπερματικό υγρό	5,00E+00% (κ.ό.)	N.I.
Ιππόγλωσσο	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Vagisil Cream	7,50E-01 mg/ml	N.I.
Άμυλο αραβοσίτου	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Talquistina	2,64E+00% (κ.ό.)	I
	6,60E-01% (κ.ό.)	I
	3,30E-01% (κ.ό.)	I
	1,70E-01% (κ.ό.)	N.I.
Τιοκοναζόλη	2,50E+00 mg/ml	N.I.

Πίνακας 25. Πιθανές παρεμβαλλόμενες ουσίες. N.I: Καμία αναφέρσιμη παρεμβολή / I: παρεμβολή.

Δοκιμάστηκαν διάφορες πιθανές παρεμβαλλόμενες ουσίες, τόσο ενδογενείς όσο και εξωγενείς, στο VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Παρατηρήθηκε παρεμβολή κατά τη δοκιμή του SOIVRE Intim Oil σε 50 μl/ml και του Talquistina σε 2,64% (κ.ό.). Οι αραιώσεις πραγματοποιήθηκαν μέχρι να επιτευχθεί η συγκέντρωση στην οποία δεν παρατηρούνταν πλέον αυτές οι επιδράσεις παρεμβολής: 12,5 μl/ml για το SOIVRE Intim Oil και 0,17% (κ.ό.) για το Talquistina. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν οδηγούν στο συμπέρασμα ότι, στις τελικές συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν, δεν παρατηρείται καμία παρεμβολή από τις αξιολογηθείσες ουσίες.

12.5.2. Αναλυτική αντιδραστικότητα

Ως αναλυτική αντιδραστικότητα μπορεί να οριστεί το ποσοστό των μικροβιακών στελεχών-στόχων ή των δειγμάτων DNA/RNA που δίνουν το σωστό θετικό αποτέλεσμα. Η αναλυτική αντιδραστικότητα μελετήθηκε *in silico* και Πειραματική δοκιμή.

Αναλυτικής αντιδραστικότητας: *in silico* ανάλυση

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας δημόσια διαθέσιμη βάση δεδομένων αλληλουχιών νουκλεοτιδίων, όπως NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), και εσωτερικό λογισμικό βιοπληροφορικής ανάλυσης, για να αποδειχθεί ότι τα γονίδια-στόχοι μπορούν να ανιχνευθούν σωστά από το τεχνολογικό προϊόν υπό μελέτη. Η ανάλυση *in silico* του σχεδιασμού εκκινητών και ανιχνευτών πραγματοποιήθηκε μέσω ευθυγράμμισης έναντι συνολικά 4.941 αναλυθέντων αλληλουχιών (αλληλουχιών που λήφθηκαν από τη βάση δεδομένων αφαιρώντας τις διπλές καταχωρήσεις) για το *T. pallidum*, 9.779 για HSV-1 και 8.689 για HSV-2. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν περιγράφονται στον παρακάτω πίνακα:

<i>Treponema pallidum</i>					
Γονίδιο	Ευθυγραμμισμένες αλληλουχίες: 607				
	Χωρίς αναντιστοιχίες	Με αναντιστοιχίες	Αλληλουχίες με επιβεβαιωμένη ανίχνευση	Αλληλουχίες χωρίς ανίχνευση	Αλληλουχίες με άγνωστη ανίχνευση
<i>16S rRNA</i>	99,84%	0,16%	99,84%	0%	0,16%
Ανθρώπινος alphaherpesvirus 1					
Γονίδιο	Ευθυγραμμισμένες αλληλουχίες: 513				
	Χωρίς αναντιστοιχίες	Με αναντιστοιχίες	Αλληλουχίες με επιβεβαιωμένη ανίχνευση	Αλληλουχίες χωρίς ανίχνευση	Αλληλουχίες με άγνωστη ανίχνευση
<i>UL1</i>	87,33%	12,67%	97,66%	0%	2,34%
Ανθρώπινος alphaherpesvirus 2					
Γονίδιο	Ευθυγραμμισμένες αλληλουχίες: 549				
	Χωρίς αναντιστοιχίες	Με αναντιστοιχίες	Αλληλουχίες με επιβεβαιωμένη ανίχνευση	Αλληλουχίες χωρίς ανίχνευση	Αλληλουχίες με άγνωστη ανίχνευση
<i>US4</i>	93,44%	6,56%	93,44%	0%	6,56%

Πίνακας 26. *In silico* δοκιμασία αναλυτικής αντιδραστικότητας. «Ευθυγραμμισμένες αλληλουχίες» = ο αριθμός των αλληλουχιών που ευθυγραμμίστηκαν χωρίς ή με ασυμφωνίες από το σύνολο των αναλυθέντων αλληλουχιών, «Αλληλουχίες με επιβεβαιωμένη

ανίχνευση» = αλληλουχίες χωρίς ασυμφωνίες ή με εργαστηριακή ανάλυση των οποίων η ανίχνευση είναι εγγυημένη, «Αλληλουχίες χωρίς ανίχνευση» = αλληλουχίες που αναλύθηκαν προηγουμένως *in silico* των οποίων η εργαστηριακή ανίχνευση δεν είναι εγγυημένη λόγω προηγούμενων αρνητικών πειραματικών ενδείξεων, «Αλληλουχίες με άγνωστη ανίχνευση» = αλληλουχίες που αναλύθηκαν προηγουμένως *in silico* των οποίων η πειραματική ανίχνευση δεν είναι εγγυημένη λόγω έλλειψης πειραματικών ενδείξεων.

Συνοψίζοντας, η ανάλυση συμπερίληψης έδειξε ορθή ανίχνευση των *16S rRNA*, *UL1* και *US4* γονιδίων των *T. pallidum*, HSV-1 και HSV-2, αντίστοιχα, με το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Αναλυτική αντιδραστικότητα: Πειραματική δοκιμή

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System για τον HSV-1 αξιολογήθηκε έναντι του DNA από ανθρώπινο ιό έρπητα 1, στέλεχος HF (κωδικός ATCC VR-260), ανθρώπινο ιό έρπητα 1, στέλεχος MacIntyre (κωδικός ATCC VR-539), ανθρώπινο ιό έρπητα 1, στέλεχος F (κωδικός ATCC VR-733) και 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1) (NIBSC 16/368), παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα.

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System για τον HSV-2 αξιολογήθηκε έναντι του DNA από ανθρώπινο ιό έρπητα 2, στέλεχος G (κωδικός ATCC VR-3393), ανθρώπινο ιό έρπητα 2, στέλεχος ATCC-2011-2 (κωδικός ATCC VR-1779) και 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2) (NIBSC 17/122), παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα.

Η αναλυτική αντιδραστικότητα του VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System για τον *T. pallidum* αξιολογήθηκε έναντι του DNA από *Treponema pallidum*, στέλεχος Nichols (University of Washington) και *Treponema pallidum* DNA Control (Vircell MBC109), παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα.

12.6. Μετρολογική ιχνηλασιμότητα

Η δοκιμασία αυτή δεν έχει σχεδιαστεί για σκοπούς μέτρησης.

13. Χαρακτηριστικά κλινικών επιδόσεων

Οι κλινικές επιδόσεις του VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System δοκιμάστηκαν χρησιμοποιώντας δείγματα επιχρισμάτων πρωκτογεννητικών και στοματικών δερματικών βλαβών που συλλέχθηκαν από νοσηλευτικό προσωπικό χρησιμοποιώντας το Copan eSwab®. Για τη συλλογή, ο αποστειρωμένος στειλός (FLOQSwab) τοποθετήθηκε στο φιαλίδιο που παρέχεται και περιέχει 1 mL Copan's Liquid Amies Elution Swab. Τα αποτελέσματα είχαν ως εξής:

	Κέντρο	Τύπος δείγματος	Ροή εργασίας	Στόχος
1	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Ισπανία) σε συνεργασία με το Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, Ισπανία) χρησιμοποιώντας δείγματα από το Biobanco del Sistema de Salud de Aragón (BSSA)	Επίχρισμα πρωκτογεννητικής και στοματικής δερματικής βλάβης (Αναδρομική μελέτη)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>
2	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Spain) using samples from Cerba Xpert	Επίχρισμα πρωκτογεννητικής και στοματικής δερματικής βλάβης (Αναδρομική μελέτη)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>

Πίνακας 27. Θέση, τύπος δείγματος, ροή εργασίας και στόχος.

Υπολογίστηκαν οι αληθώς θετικές και αρνητικές τιμές, οι ψευδώς θετικές και αρνητικές τιμές, οι τιμές ευαισθησίας και ειδικότητας, οι τιμές θετικής προγνωστικής αξίας (PPV), οι τιμές αρνητικής προγνωστικής αξίας (NPV) και οι λόγοι πιθανοφανειών (LR) για το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Τα αποτελέσματα και η ανάλυση των διαφόρων μελετών συγκεντρώθηκαν ως ενιαία τιμή αναφοράς λόγω του ότι και οι δύο μελέτες χρησιμοποίησαν την ίδια μέθοδο αναφοράς, τον ίδιο τύπο δειγμάτων και τα ίδια κριτήρια ένταξης/αποκλεισμού. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα:

Κέντρο	Συγκριτική ανάλυση	Στόχος	TP	TN	FP	FN	Ευαισθησία	Ειδικότητα	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)

Πίνακας 28. Αληθώς θετικές (TP) και αληθώς αρνητικές (TN) τιμές, ψευδώς θετικές (FP) και ψευδώς αρνητικές (FN) τιμές, ευαισθησία, ειδικότητα, τιμές θετικής προγνωστικής αξίας (PPV), τιμές αρνητικής προγνωστικής αξίας (NPV) και λόγοι πιθανοφανειών (LR) για το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα δείχνουν υψηλό ποσοστό συμφωνίας για την ανίχνευση HSV-1, HSV-2 και *T. pallidum* χρησιμοποιώντας το VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Βιβλιογραφία

- 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>

Σύμβολα για IVD στοιχεία και αντιδραστήρια

 <i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	 Διατηρείτε στεγνό	 Ημερομηνία λήξης	 Κατασκευαστής	 Κωδικός παρτίδας
 Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	 Περιορισμός θερμοκρασίας	 Περιεχόμενο επαρκές για <n> τεστ	 Αποκλειστική ταυτοποίηση ιατροτεχνολογικού προϊόντος	 Αριθμός καταλόγου
 Σήμανση CE	 Να διατηρείται μακριά από το ηλιακό φως			

Εμπορικά σήματα

Το BD MAX™ είναι σήμα κατατεθέν της Becton, Dickinson and Company.

Με την επιφύλαξη των δικαιωμάτων τροποποίησης. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος. © Certest Biotec, S.L.

Όλα τα υπόλοιπα εμπορικά σήματα που μπορεί να εμφανίζονται σε αυτό το ένθετο συσκευασίας αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους.



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Ισπανία)

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

Πληροφορίες χορηγού Αυστραλίας:

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

Πληροφορίες χορηγού Νέας Ζηλανδίας:

Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.
Mt. Wellington Auckland 1060, Νέα Ζηλανδία

Έλεγχος αλλαγών		
Αριθ. έκδοσης	Αλλαγές	Ημερομηνία
00	Αρχική έκδοση Η παρούσα έκδοση αποτελεί μετάφραση του πρωτότυπου εγγράφου στα αγγλικά: IUo-444222en0725.00.	27/07/2025

Πίνακας Α 2. Πίνακας αλλαγής μάρτυρα.

Αναθεώρηση: 00

VIASURE

by **certest**



 **Certest Biotec, S.L.**
Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, N°1 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.