

Real Time PCR Detection Kit

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

CE IVD
2797

Denne bruksanvisningen gjelder for følgende referanser:

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

Tabell A 1. Referanse for produkt som skal brukes med BD MAX™ System.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

PT Para baixar o IFUS em outras 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.

Se certest.es/viasure/labeling hvis ditt språk ikke står på listen. Kontakt viasure@certest.es hvis ditt språk ikke står på listen.

Merk: Brukere skal varsle produsenten og de kompetente myndigheter i medlemslandet der de er etablert som brukere og/eller pasienter, om enhver alvorlig hendelse relatert til produktet.

Innhold

1. Tiltentkt formål.....	6
2. Sammendrag og forklaring.....	6
3. Prinsipp for prosedyren	7
4. Reagenser som følger med	8
5. Reagenser og utstyr som må skaffes av brukeren	8
6. Transport-, oppbevarings- og bruksforhold	9
7. Forholdsregler for brukere.....	9
8. Testprosedyre	11
8.1. Innsamling, transport og oppbevaring av prøver.....	11
8.2. Klargjøring av prøver og DNA-ekstraksjon	12
8.3. PCR-protokoll	12
8.3.1. Opprette PCR-testprogram for VIASURE <i>HSV-1</i> , <i>HSV-2</i> & <i>Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System.....	12
8.3.2. Sette opp BD MAX™-stativet.....	15
8.3.3. Sette opp BD MAX™-instrumentet.....	16
8.3.4. BD MAX™-resultatrapport.....	17
9. Tolkning av resultater	17
10. Testens begrensninger	19
11. Kvalitetskontroll	20
12. Egenskaper for analytisk ytelse.....	21
12.1. Analytisk linearitet	21
12.2. Analytisk sensitivitet.....	22
12.2.1. Blankgrense (LoB)	22
12.2.2. Deteksjonsgrense (LoD)	22
12.3. Måleområde.....	22
12.4. Nøyaktighet.....	23
12.4.1. Riktighet.....	23
12.4.2. Presisjon.....	24
12.4.3. Nøyaktighet.....	26
12.5. Analytisk spesifisitet og reaktivitet	27

12.5.1.	Analytisk spesifisitet.....	27
12.5.2.	Analytisk reaktivitet	32
12.6.	Metrologisk sporbarhet.....	33
13.	Egenskaper for klinisk ytelse	33
	Litteratur.....	35
	Symboler for IVD-komponenter og reagenser	36
	Varemerker.....	36

NORSK

1. Tiltent formål

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System er en automatisert qPCR-test designet for samtidig kvalitativ påvisning av DNA fra Herpes simplex-virus 1 (HSV-1), Herpes simplex virus 2 (HSV-2) og *Treponema pallidum* (syfilis) i prøvepensler fra orale og anogenitale hudlesjoner, tatt av helsepersonell, fra individer med mistenkt infeksjon med HSV-1-, HSV-2- eller *T. pallidum*-infeksjon. Denne testen er ment som et hjelpemiddel ved diagnostisering av infeksjon med den ovennevnte mikroorganismen i kombinasjon med pasientens kliniske tegn og/eller symptomer samt epidemiologiske risikofaktorer. Positive resultater indikerer tilstedeværelse av nukleinsyremål (NA-mål), men utelukker ikke tilstedeværelse av andre patogener som ikke påvises av testen. Negative resultater utelukker ikke tilstedeværelse av NA-målene og må ikke brukes som eneste grunnlag for behandling eller andre beslutninger om pasienthåndtering. Analysen bruker BD MAX™-systemet til automatisert ekstraksjon av DNA og påfølgende qPCR ved bruk av de medfølgende reagensene kombinert med universale reagenser og forbruksmateriell for BD MAX™-systemet. DNA ekstraheres fra prøver, amplifiseres ved bruk av qPCR og påvises ved bruk av spesifikke primere og en fluorescerende rapportørfargeprobe for HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum*.

Produktet skal brukes av kvalifisert laboratoriepersonell som har fått spesifikke instruksjoner og opplæring i teknikkene som brukes under sanntids PCR og *in vitro*-diagnostiske prosedyrer (inkludert opplæring i sanntids PCR-instrumentet (termosykler) og system for ekstraksjon av nukleinsyre).

2. Sammendrag og forklaring

Humant Herpes simplex-virus (HSV) type 1 og 2 er to av de vanligste humane virusene på verdensbasis, og er ofte forbundet med sykdommer som forkjølelsessår, genital herpes, herpes stromal keratitt, meningitt og encefalitt (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). HSV påvirker primært huden og slimhinnene, forårsaker vedvarende infeksjoner som består av hvileperioder (latens) og tilbakevendende sykdom (reaktivering) (Cole, 2020; Minaya et al., 2017). Overføring av både HSV-1 og HSV-2 skjer gjennom oral kontakt, mens HSV-2-infeksjoner oppstår senere, vanligvis gjennom seksuell overføring. De kliniske manifestasjonene av disse virusene er svært varierende: asymptomatiske, milde eller livstruende (Cole, 2020; WHO, 2023; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Hos de fleste immunkompetente individer forårsaker HSV mild og selvbegrensende sykdom (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). HSV-infeksjon er imidlertid også forbundet med høy morbiditet og mortalitet hos enkelte individer, som immunkompromitterte pasienter med tilbakevendende HSV-infeksjon (Cole, 2020; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Det har blitt observert at infeksjon med én type HSV vanligvis genererer immunitet som forhindrer reinfeksjon med samme serotype, men ikke med den andre (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021).

Spiroketen *Treponema pallidum* er anerkjent som den kausative agenten for venerisk syfilis, yaws, endemisk syfilis og pinta, som alle er flertrinnsinfeksjoner som kun kan skilles fra hverandre basert på kliniske, epidemiologiske og geografiske kriterier (Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023; Radolf et al., 2016; Tudor et al., 2022). *T. p. pertenue* er assosiert med yaws, *T. carateum* med pinta og *T. p. endemicum* med endemisk syfilis, men *T. pallidum*-underarten *pallidum*, er den eneste underarten som er knyttet til venerisk syfilis (Mercuri et al., 2022; Tudor et al., 2022).

Syfilis utvikler seg gjennom flere stadier, hvert med ulike tegn og symptomer, som sjanker i primær syfilis og utslett eller sår i sekundær syfilis (CDC, 2023; Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023). På grunn av de mange ulike kliniske manifestasjonene har syfilis fått kallenavnet «den store imitatoren» (Peeling et al., 2023; Tudor et al., 2022). Denne sykdommen har rammet ulike risikoutsatte befolkningsgrupper gjennom historien, og selv om den nesten ble utryddet i 1998, har forekomsten vært økende siden 2000 (Mercuri et al., 2022).

Det anbefales alltid å teste for å skille HSV-1 fra HSV-2, da dette har innvirkning på både prognose og behandling. CDC anbefaler å bekrefte den kliniske diagnosen med virustypiske virologiske og serologiske tester (Cole, 2020). En pålitelig laboriemetode for diagnostisering av akutte genitale HSV-infeksjoner er påvisning av HSV-1- og HSV-2-DNA gjennom polymerasekjedereaksjon (PCR) (Cole, 2020). Når det gjelder *T. pallidum*, har direkte påvisning og serologisk testing blitt brukt til laboriediagnostisering siden dette patogenet ikke kan dyrkes (Forrestel et al., 2020). Serologiske tester kan imidlertid ikke skille syfilis fra andre *Treponema*-infeksjoner på grunn av den høye genetiske likheten mellom patogene treponemer (Forrestel et al., 2020). Nukleinsyreforsterkningsteknikker, som PCR, muliggjør påvisning av bakteriell DNA i kliniske prøver i de tidlige stadiene av sykdommen, og den høye sensitiviteten gjør at de kan tilby en potensiell strategi for å kontrollere syfilisepidemien (Peeling et al., 2023).

3. Prinsipp for prosedyren

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System er designet for samtidig kvalitativ påvisning av DNA fra Herpes simplex-virus 1 (HSV-1), Herpes simplex-virus 2 (HSV-2) og *Treponema pallidum* (syfilis) i prøvepensler fra orale og anogenitale hudlesjoner. Etter DNA-isolering utføres identifisering av HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum* ved amplifisering av et konserverte område av *glykoprotein L* som kodes for av *UL1*-genet til HSV-1, *glykoprotein G US4* som kodes for av -genet til HSV-2 og *16S rRNA* som kodes for av -genet til *T. pallidum*, ved bruk av spesifikke primere og fluorescensmerkede prober.

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System er basert på 5'-eksonuklease-aktiviteten til DNA-polymerase. Under DNA-amplifikasjon kløver dette enzymet proben som er bundet til den komplementære DNA-sekvensen, og skiller quencher-fargen fra reporterfargen. Denne reaksjonen genererer en økning i fluorescenssignalet som er proporsjonal med kvantiteten av måltemplatet. Denne fluorescensen måles av BD MAX™ System.

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System inneholder alle komponentene som behøves for sanntids PCR-analyse (spesifikke primere/prober, dNTP-er, buffer, polymerase) i et stabilisert¹ format, samt en endogen intern kontroll (EIC) (humant RNase P-gen) for å kontrollere prøvens integritet, for å overvåke ekstraheringsprosessen og/eller for å påvise hemming av polymeraseaktiviteten. Humane housekeeping-gener er involvert i grunnleggende cellededlikehold og forventes derfor å være til stede i alle kjernholdige humane celler og opprettholde relativt konstante genuttryksnivåer.

¹ Vær oppmerksom på at begrepene «stabilisert» og «lyofilisert» brukes uatskillelig og som synonymer for hverandre i hele dette dokumentet.

Mål	Kanal	Gen
HSV-1	475/520	<i>Glykoprotein L</i> som kodes for av <i>UL1</i> -gen
HSV-2	530/565	<i>Glykoprotein L</i> som kodes for av <i>US4</i> -gen
<i>T. pallidum</i>	630/665	<i>16S rRNA</i> -gen
Endogen intern kontroll (EIC)	585/630	<i>RNAse P</i>

Tabell 1. Mål, kanal og gener.

4. Reagenser som følger med

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System inkluderer følgende materialer og reagenser, nærmere beskrevet i tabell 2:

Reagens/materiale	Beskrivelse	Konsentrasjonsområde	Kode	Mengde
<i>HSV-1</i> , <i>HSV-2</i> & <i>Treponema pallidum</i> reaction tube	Beskyttende stoffer og stabilisatorer	± 6 g/100 ml*	1E-folie	2 poser à 12 blanke rør
	Nukleotid-trifosfat (dNTPs)	± 1 mM*		
	Primere og prober	0,2–1 nMol/μl*		
	Enzymer	10–100 U/rxn*		
Rehydration Buffer tube	Saltløsningsmikstur	± 13 mM	11-folie	1 poser à 24 blanke rør
	Buffer (TRIS, pH)	± 67 mM		

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

* For komponenter i stabilisert format gjelder konsentrasjonsområdet etter rehydrering.

5. Reagenser og utstyr som må skaffes av brukeren

Følgende liste inneholder materialene som er nødvendige for bruk, men som ikke er inkludert i VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

- Sanntids PCR-instrument: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 eller 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (ref: 437519).
- Virvelblander.
- Mikropipetter (nøyaktighet mellom 2 og 1000 μl)
- Nukleasefritt vann
- Filterspisser.
- Pudderfrie engangshansker.

Valgfritt:

- Eksterne kontrollmaterialer kan kjøres som en del av kvalitetskontrollprosedyren for analysen. Kommersielt tilgjengelig kontrollmateriale og/eller prøver som tidligere er karakterisert som positive eller negative, kan brukes som henholdsvis ekstern positiv kontroll (EPC) eller ekstern negativ kontroll (ENC). Utvalgelse og validering av EPC og ENC må gjøres i henhold til gjeldende lokale, delstatlige og/eller nasjonale regler og laboratoriets standardprosedyrer for kvalitetskontroll. I tillegg må brukeren følge de respektive bruksanvisningene for kommersielt tilgjengelig kontrollmateriale.

6. Transport-, oppbevarings- og bruksforhold

- Settene kan sendes og oppbevares ved 2–30 °C frem til utløpsdatoen som er angitt på etiketten.
- Unngå vibrasjoner under transportering for å forhindre væskelekkasje.
- Etter åpning av aluminiumsposene med reaksjonsrørene kan produktet brukes i opptil 28 dager ved 2–30 °C. Oppbevar hetteglasset skjermet for lys.

Følgende tabell viser et sammendrag over transport-, oppbevarings- og bruksforholdene for hele settet og hver enkelt komponent:

Komponent	Transportforhold	Oppbevaringsforhold	Bruksforhold
Hele VIASURE HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System	2–30 °C til utløpsdatoen angitt på etiketten.	Før bruk: 2–30 °C til utløpsdatoen angitt på etiketten.	* Se bruksforhold for hver enkelt komponent.
HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> reaction tube (1E-folie)		Før bruk: 2–30 °C til utløpsdatoen angitt på etiketten. Når posen med silikagel er åpnet: 2–30 °C i opptil 28 dager.	Romtemperatur.
Rehydration Buffer tube		Før bruk: 2–30 °C til utløpsdatoen angitt på etiketten. Når posen med silikagel er åpnet: 2–30 °C i opptil 28 dager.	Romtemperatur.

Tabell 3. Sammendrag over transport-, lagrings- og bruksforholdene for VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System og hver enkelt komponent.

7. Forholdsregler for brukere

- Produktet skal brukes av kvalifisert laboratoriepersonell som har fått spesifikke instruksjoner og opplæring i teknikkene som brukes under sanntids PCR og in vitro-diagnostiske prosedyrer.
- Til diagnostisk bruk *in vitro*.
- Bruksanvisningen for VIASURE-produktet og brukerhåndboken for BD MAX™ System må leses grundig før bruk av VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Ikke utfør analysen før du har lest og forstått informasjonen om prosedyrene, sikkerhetsreglene og begrensningene som beskrives i bruksanvisningen.
- Ikke bruk reagenser og/eller materialer som er gått ut på dato.
- Ikke bruk settet hvis etiketten som forseglar ytteresken er brutt.
- Ikke bruk reagenser hvis beskyttelsesesken er åpen eller revnet ved levering.
- Ikke bruk reagenser hvis beskyttelsesposene er åpne eller revnet ved levering.
- Ikke bruk reagenser hvis reagensposene ikke har tørkemiddel eller hvis tørkemiddelet er ødelagt.
- Ikke fjern tørkemiddelet fra reagensposene.
- Må ikke brukes hvis folien er revnet eller ødelagt.
- Ikke bland reagenser fra forskjellige poser og/eller sett og/eller loter.
- Beskyttelsesposene til reagensene skal lukkes med lynlåsen umiddelbart etter hver bruk for å beskytte Master Mix mot sollys. Fjern all overflødig luft i posene før de forsegles.
- Beskytt reagensene mot fuktighet. Langvarig eksponering for fuktighet kan påvirke produktytelsen.
- For å unngå forringelse av etiketten må produktet ikke brukes i nærheten av løsemidler.

- Om reagensmiksturen har et stabilisert format – vanligvis lokalisert i bunnen av røret – og et utseende som er ulikt det vanlige utseendet (uten konisk form, ikke homogen, mindre/større i størrelse og/eller har en annen farge enn hvitaktig), endrer ikke dette prøvens funksjonalitet.
- Sørg for at reaksjonsrøret og rehydreringsbufferrøret er satt godt på plass under oppsettet av BD MAX™-stativet.
- I tilfeller der andre PCR-tester utføres i det samme generelle området av laboratoriet, må det utvises forsiktighet for å unngå kontaminering av VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3-ekstraksjonssettet eller eventuelle andre reagenser som kreves for testing samt BD MAX™ System. Unngå alltid at reagenser kontamineres med mikrober og ribonuklease (RNase)/deoksyribonuklease (DNase). Det anbefales å bruke sterile RNase/DNase-frie aerosolresistente eller "positive displacement"-pipettespisser til engangsbruk. Bruk en ny pipettespiss for hver prøve. Du må skifte hansker før du håndterer reagenser og kassetter (BD MAX™ PCR Cartridge).
- For å unngå miljøkontaminering med amplikoner må du ikke brette åpen BD MAX™ PCR Cartridge etter bruk. Forseglingene på BD MAX™ PCR Cartridge er designet for å unngå kontaminering.
- Benytt en enveis arbeidsflyt. Den skal starte i ekstraksjonsområdet og deretter gå videre til amplifikasjons- og påvisningsområdet. Prøver, utstyr og reagenser må ikke returneres til området der det forrige trinnet ble utført.
- Følg god laboratoriepraksis. Bruk verneklær, engangshansker, vernebriller og maske. Ikke spis, drikk, røyk eller påfør kosmetiske produkter i arbeidsområdet. Vask hendene når testen er utført.
- Prøvene må behandles som potensielt smittefarlige og/eller biologisk farlige, i likhet med alle reagenser og materialer som har blitt eksponert for prøvene, og de må håndteres i henhold til nasjonale sikkerhetsregler. Ta nødvendige forholdsregler under innsamling, oppbevaring, håndtering og kassering av prøver.
- Prøver og reagenser må håndteres i et biologisk sikkerhetsskap. Bruk personlig verneutstyr (PU) i tråd med de relevante retningslinjene for håndtering av potensielt smittefarlige prøver. Avfall skal kastes i henhold til lokale og delstatlige forskrifter.
- Regelmessig dekontaminering av annet vanlig utstyr som brukes er anbefalt, spesielt mikropipetter og arbeidsflater.
- I henhold til forordning (EF) nr. 1907/2006 (REACH) kreves det ikke sikkerhetsdatablad (MSDS) for VIASURE Assays for BD MAX™ System fordi de er klassifisert som ikke helse- eller miljøskadelige fordi de ikke inneholder stoffer og/eller blandinger som oppfyller fareklassifiseringskriteriene som finnes i forordning (EF) nr. 1272/2008 (CLP), eller som har konsentrasjoner høyere enn verdien fastsatt i nevnte forordning for deres deklarerer. En erklæring om at det ikke kreves sikkerhetsdatablad kan fås ved henvendelse til Certest Biotec S.L.
- Sørg for at definisjonen av PCR-testprogrammet på BD MAX™ System utføres i samsvar med instruksjonene i avsnittet "PCR-protokoll" (prøveekstraksjonsparametere, egendefinerte strekkoder, PCR-innstillinger osv.).
- Konsulter brukerhåndboken for BD MAX™ System for ytterligere advarsler, forsiktighetsregler og prosedyrer.
- Enheten leveres ikke med et analysesertifikat, men det kan lastes ned fra nettstedet til Certest Biotec S.L. (www.certest.es) ved behov.

8. Testprosedyre

8.1. Innsamling, transport og oppbevaring av prøver

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System har blitt testet på anogenitale og orale prøvemensler av hudlesjoner samlet inn ved bruk av Copan ESwab® (Copan's Liquid Amies Elution Swab) (heretter kalt naturlige hudlesjonsprøver). Andre typer prøver må valideres av brukeren.

Innsamling, oppbevaring og transport av prøver skal utføres under de forhold som valideres av brukeren. Generelt skal kliniske prøver samles inn og merkes på riktig måte i rene beholdere med eller uten transportmedium (avhengig av prøvetypen). Etter innsamling skal prøvene plasseres i en pose for biologisk farlig materiale og transporteres og behandles så snart som mulig for å sikre kvaliteten på testen. Prøvene skal transporteres ved romtemperatur (RT) eller 2 ± 2 °C i opptil 48 timer i henhold til lokale og nasjonale regler for transport av patogen materiale. For langvarig transport anbefaler vi forsendelse ved -20 °C eller lavere². Prøver som sendes inn til molekylær testing, må oppbevares under kontrollerte forhold slik at ikke nukleinsyrene brytes ned under oppbevaringen. Det anbefales å bruke ferske prøver til testen, men dersom dette ikke er mulig, eller ved en retrospektiv studie, bør prøvene oppbevares ved -70 eller -80 °C, og alternativt ved -20 °C³.

De kliniske prøvene skal samles inn, transporteres og oppbevares i henhold til relevante retningslinjer og/eller retningslinjer for laboratoriet. Eksempler kan ses i IDSA 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) eller Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J. & Orta Mira, N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin. (engelsk utg.)* 37, 127–134 (2019).

OBS! Betingelsene angitt over for innsamling, transport og oppbevaring av prøver er anbefalinger basert på anbefalingene for urogenitaltraktusprøver som skal brukes til påvisning av nukleinsyre. Disse anbefalingene fremkommer i veiledningene omtalt tidligere. I alle tilfeller anbefaler vi å følge laboratoriets retningslinjer og/eller retningslinjer for korrekt transport og preservering av prøver.

Det ble utført en intern stabilitetsstudie på prøver med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, med negativ matriks for naturlige hudlesjoner tilsatt humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493 ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus type 2, stamme MS (ref. 0810006CF, Zeptomatrix) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University) ved 3xLoD-konsentrasjon. Stabiliteten ble analysert ved hjelp av tre forskjellige analyser: primærprøvestabilitet med stabilitet i SBT ved 2 ± 2 °C og 25 ± 2 °C, primærprøvestabilitet ved -20 ± 2 °C og fryse- (-80 °C)/tine-

² IDSA 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))

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

sykluser (25 °C). Resultatene viste god ytelse for prøver lagret under alle testede forhold. Konklusjonen er at når det gjelder primærprøvestabilitet, er naturlige hudlesjonsprøver stabile etter 48 timer ved 2±2 °C og 25±2 °C. Når det gjelder stabilitet i SBT, er prøver stabile etter 7 dager i SBT ved 2±2 °C og 25±2 °C (etter å ha vært oppbevart i opptil 48 timer ved 2±2 °C og 25±2 °C før tilsetning i SBT). I tillegg er prøvene stabile etter 6 måneders oppbevaring ved -20±2 °C og i minst 5 fryse-/tine-sykluser.

8.2. Klargjøring av prøver og DNA-ekstraksjon

Klargjør prøven i henhold til anbefalingene i bruksanvisningen for ekstraksjonssettet som brukes, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipetter 500 µL av prøven i et BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube (prøvebufferrør) og lukk røret med en septumhette. Pass på å blande godt ved å bruke virvelblanding med høy hastighet i 1 minutt. Fortsett til betjening av BD MAX™ System Operation.

Merk: Sørg for at virvelblanding utføres noen minutter før kjøringen startes. Hvis samme BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube brukes til retesting, anbefales det å manuelt riste røret noen minutter før oppstart av testen, for å sikre skikkelig homogenisering av prøven.

Merk at prosedyrer for klargjøring til ekstraksjon i samsvar med den spesifikke anvendelsen skal utvikles og valideres av brukeren og at enkelte andre prøver kan kreve forbehandling.

8.3. PCR-protokoll

Merk: Se brukerhåndboken for BD MAX™ System for detaljerte instruksjoner.

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

Merk: Hvis du allerede har opprettet testen for VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System for BD MAX™ System, kan du hoppe over trinn 8.3.1 og gå direkte til 8.3.2.

- 1) Velg fanen "Test Editor" (Testredigering) på skjermbildet "Run" (Kjør) på BD MAX™ System.
- 2) Klikk på knappen "Create" (Opprett).

I fanen "Basic Information" (Grunnleggende informasjon):

- 3) I feltet "Test Name" (Testnavn), skriver du inn et navn på testen: f.eks. VIASURE HHT.

Merk: Testnavnet må være unikt og kan ikke ha mer enn tjue tegn.

- 4) Fra nedtrekksmenyen "Extraction Type" (Ekstraksjonstype), velg "ExK TNA-3".
- 5) På nedtrekksmenyen "Master Mix Format" (Mastermiksformat), velger du "Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer" (Type 5: Konsentrert lyofilisert MM med rehydreringsbuffer).

- 6) I feltet “Sample Extraction Parameters” (Prøveekstraksjonsparametere) velger du “User Defined” (Brukerdefinert) og justerer verdiene for følgende parametere (tabell 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Prøveekstraksjonsparametere)	<i>Value (units)</i> (Verdi (enheter))
Lysis Heat Time (Oppvarmingstid for lysering)	15 (min)
Lysis Temperature (Lyseringstemperatur)	55 (°C)
Sample Tip Height (Prøvespisshøyde)	1600 (trinn)
Sample Volume (Prøvevolum)	475 (µl)
Wash Volume (Vaskevolum)	500 (µl)
Neutralization Volume (Nøytraliseringsvolum)	I/R
DNase Heat Time (Oppvarmingstid for DNase)	I/R

Tabell 4. Parametere for prøveekstraksjon utført med BD MAX™ ExK™ TNA-3.

- 7) I feltet “Ct Calculation” (Ct-beregning), velger du “Call Ct at Threshold Crossing” (Angi Ct ved terskelkryssing). Denne er valgt som standard.
- 8) Hvis du kjører versjon 5.00 av programvaren eller høyere og har merket de foliebelagte innklikkingsrørene med strekkoder, går du til feltet “Custom Barcodes” (Egendefinerte strekkoder) og velger du følgende konfigurasjon:
- Snap-In 2 Barcode (Strekkode for innklikkingsrør 2): 1E (for *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* reaction tube).
 - Snap-In 3 Barcode (Strekkode for innklikkingsrør 2): 11 (vedrørende Rehydration Buffer tube).

I fanen “PCR Settings” (PCR-innstillinger):

- 9) I feltet “PCR Settings” (PCR-innstillinger) skriver du inn følgende parametere beskrevet i tabell 5: “Alias” (opptil syv alfanumeriske tegn), “PCR Gain” (PCR-forsterkning), “Threshold” (Terskel), “Ct Min” og “Ct Max”.

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

Tabell 5. PCR settings (PCR-innstillinger).

Merk: Det anbefales at man først stiller inn minimum terskelverdiene som er listet opp ovenfor for hver kanal, men de endelige innstillingene må bestemmes av sluttbrukeren under tolkningen av resultatene for å sikre at tersklene faller innenfor den eksponentielle fasen av fluorescenskurvene og over et eventuelt bakgrunnssignal. Terskelverdien for forskjellige instrumenter kan variere grunnet forskjellige signalintensiteter.

- 10) I feltet “Color compensation” (Fargekompensasjon) skriver du inn følgende parametere (tabell 6).

	Channel (Kanal)	False Receiving Channel (Kanal som mottar falske data)				
		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Eksitasjonskanal)	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	-

Tabell 6. Parametere for fargekompensasjon.

I fanen **“Melt Settings”** (Smelteinnstillinger) trengs ingen handling, da den ikke er relevant for dette produktet.

I fanen **“Test Steps”** (Testtrinn):

- 11) Skriv inn navnet på trinnet (opptil tjue tegn) og angi følgende parametere for å definere hvert trinn i PCR-protokollen: “Profile Type” (Profiltype), “Cycles” (Sykluser), “Time” (Tid) og “Temperature” (Temperatur), og velg feltet “Detect” (Påvisning) for å definere påvisningstrinnet (tabell 7). Klikk på knappen “Add” (Legg til) for å legge til et nytt trinn, og gjenta til alle nødvendige trinn er definert.

Merk: Feltet “Type” må være tomt.

Step (Trinn)	Step name (Navn på trinn)	Profile Type (Profiltype)	Cycles (Sykluser)	Time (s) (Tid (s))	Temperature (Temperatur)	Detect (Påvis)
Initial denaturation (Innledende denaturering)	IN-denaturering	Hold	1	120	98 °C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturering og herding/forlengelse (datainnsamling))	Annealing/Extension	2-Temperature	45	10	95 °C	-
				41	63 °C	✓

Tabell 7. PCR-protokoll

I fanen **“Result Logic”** (Resultatlogikk):

- 12) I feltet “Target” (Mål) skriver du inn et navn på målet: f.eks. HSV1 (på opptil syv alfanumeriske tegn). Gjenta trinn 12–15 for hvert mål (f.eks. HSV2 eller TRE) i henhold til tabellene som er spesifikke for målet som defineres.
- 13) Klikk i avmerkingsboksen “Analyze” (Analyser) for å inkludere ønskede bølgelengder (PCR-kanaler) i analyseresultatet (tabell 8–10).

Wavelength (Bølgelengde)	Alias (Alias)	Type (Type)	Analyze (Analyse)
475/520	HSV1	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tabell 8. Valg av PCR-kanaler i “Result logic” (Resultatlogikk) for HSV1 (Herpes simplex-virus 1)-mål.

Wavelength (Bølgelengde)	Alias (Alias)	Type (Type)	Analyze (Analyse)
530/565	HSV2	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tabell 9. Valg av PCR-kanaler i “Result logic” (Resultatlogikk) for HSV2 (Herpes simplex-virus 2)-mål.

Wavelength (Bølgelengde)	Alias (Alias)	Type (Type)	Analyze (Analyse)
585/630	EIC	PCR	✓
630/665	TRE	PCR	✓

Tabell 10. Valg av PCR-kanaler i “Result logic” (Resultatlogikk) for TRE (*Treponema pallidum*)-mål.

14) Klikk på knappen “Edit Logic” (Rediger logikk).

15) I vinduet “Edit Logic” (Rediger logikk) vises alle kombinasjoner av resultattyper. For hver rad velger du resultatet på rullegardingenmenyen “Result” (Resultat) som kalles opp når betingelsene i den raden er oppfylt, i henhold til tabell 11–13.

Result (Resultat)	HSV1 (475/520)	EIC (585/630)
POS	Valid (Gyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Valid (Gyldig)	Invalid (Ugyldig)
NEG	Invalid (Ugyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Invalid (Ugyldig)	Invalid (Ugyldig)

Tabell 11. Liste over kombinasjoner av resultattyper og resultatlogikk for HSV1 (Herpes simplex-virus 1)-mål. Tilgjengelige resultater er POS (positiv), NEG (negativ) og UNR (uavklart).

Result (Resultat)	HSV2 (530/565)	EIC (585/630)
POS	Valid (Gyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Valid (Gyldig)	Invalid (Ugyldig)
NEG	Invalid (Ugyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Invalid (Ugyldig)	Invalid (Ugyldig)

Tabell 12. Liste over kombinasjoner av resultattyper og resultatlogikk for HSV2 (Herpes simplex-virus 2)-mål. Tilgjengelige resultater er POS (positiv), NEG (negativ) og UNR (uavklart).

Result (Resultat)	TRE (630/665)	EIC (585/630)
POS	Valid (Gyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Valid (Gyldig)	Invalid (Ugyldig)
NEG	Invalid (Ugyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Invalid (Ugyldig)	Invalid (Ugyldig)

Tabell 13. Liste over kombinasjoner av resultattyper og resultatlogikk for TRE (*Treponema pallidum*)-mål. Tilgjengelige resultater er POS (positiv), NEG (negativ) og UNR (uavklart).

Merk: I henhold til Ct Max, som ble definert tidligere (tabell 5), regnes resultattypen for HSV1 (475/520), HSV2 (530/565), EIC (585/630) eller TRE (630/665)-kanaler som “Valid” (Gyldig) når den oppnådde Ct-verdien er ≤ 40 , og “Invalid” (Ugyldig) når den oppnådde Ct-verdien er > 40 .

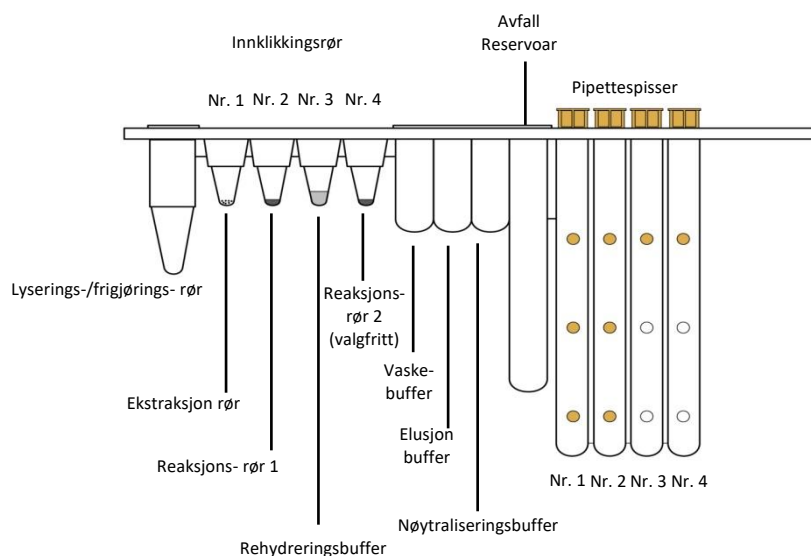
16) Klikk på knappen “Save” (Lagre) for å lagre testen.

8.3.2. Sette opp BD MAX™-stativet

- 1) Ta ut en separat modulreagensstrimmel fra BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit for hver prøve som skal testes. Dunk forsiktig hver strimmel mot en hard overflate for å sikre at alle væskene ligger i bunnen av rørene, og sett dem inn i BD MAX™ System prøvestativ.
- 2) Ta ut nødvendig antall BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (ekstraksjonsrør) (B4) (hvit folie) fra beskyttelsesposen. Klikk Extraction Tube(s) (ekstraksjonsrør(ene)) (hvit folie) på plass i deres respektive posisjoner i TNA-strimmelen (posisjon 1, hvit fargekode på stativet. Se figur 1). Fjern overflødig luft og lukk posen med lynlåsen.
- 3) Fastslå og adskill egnet antall HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* reaction tubes (1E -folie), og klikk dem på plass i deres respektive posisjoner i strimmelen (klemmeposisjon 2, grønn fargekode på stativet. Se figur 1).
 - a. Fjern overflødig luft og lukk aluminiumsposen med lynlåsen.

- b. For riktig rehydrering må du passe på at det frysetørkede produktet er i bunnen av røret og ikke har festet seg til det øverste området av røret eller til folietetningen. Dunk forsiktig hvert rør mot en hard overflate for å sikre at alt produktet ligger i bunnen av røret.
- 4) Ta ut nødvendig antall Rehydration Buffer tubes (11-folie) og klikk dem på plass i deres respektive posisjoner i strimmelen (posisjon 3, uten fargekode på stativet. Se figur 1).
 - a. Fjern overflødig luft og lukk posen med lynlåsen.
 - b. For å sikre riktig overføring må du passe på at væsken er i bunnen av røret og ikke har festet seg øverst i røret eller til folietetningen. Dunk forsiktig hvert rør mot en hard overflate for å sikre at hele bufferen er i bunnen av røret.

Figur 1. BD MAX™ TNA Reagent-strimmelen (TNA) fra BD MAX™ ExK™ TNA-3-settet.



8.3.3. Sette opp BD MAX™-instrumentet

- 1) Velg fanen "Worklist" (Arbeidsliste) på skjermen "Run" (Kjør) i BD MAX™ System-programvaren med v4.50A eller nyere.
- 2) I nedtrekksmenyen "Test" velger du ønsket test, f.eks. VIASURE HHT (hvis den ikke allerede er opprettet, se avsnitt 8.3.1).
- 3) Velg riktig partinummer for kitet fra nedtrekksmenyen "Kit Lot Number" (Kit-partinummer) (oppgitt på den ytre esken til ekstraksjonskitet som brukes) (valgfritt).

Merk: Partinummer må defineres i visningen "Inventory" (Beholdning) før de kan velges her.

- 4) Oppgi ID-nummeret til Sample Buffer Tube (prøvebufferrøret) i feltet "Sample Tube" (Prøverør), enten ved å skanne strekkoden eller ved å skrive den inn manuelt.
- 5) Fyll ut feltet "Patient ID" (Pasient-ID) og/eller "Accession" (Inntak) og klikk på Tab- eller Enter-tasten. Fortsett helt til du har lagt inn alle strekkodene for "Sample Buffer Tubes" (prøvebufferrørene). Sørg for at prøve-/pasient-ID-er og Sample Buffer Tubes (prøvebufferrørene) samsvarer.
- 6) Plasser det klagjorte prøvebufferrøret i BD MAX™-stativene.

- 7) Plasser stativet(ene) i BD MAX™ System (stativ A settes på venstre side av BD MAX™ System og stativ B settes på høyre side).
- 8) Plasser nødvendig antall BD MAX™ PCR Cartridge(s) i BD MAX™ System.
- 9) Lukk døren på BD MAX™ System.
- 10) Klikk på "Start" for å begynne prosedyren.

8.3.4. BD MAX™-resultatrapport

- 1) På menylinjen klikker du på knappen "Results" (Resultater).
- 2) Enten dobbeltklikk på kjøringen din på listen, eller trykk på knappen "View" (Vis).
- 3) Knappene "Print" (Skriv ut) og "Export" (Eksporter) nederst på skjermen aktiveres.

Slik skriver du ut resultatene:

1. Klikk på knappen "Print" (Skriv ut).
2. I vinduet "Print" (Skriv ut) forhåndsvisning av kjøringsrapporten, velger du: "Run Details" (Kjøringsdetaljer), "Test Details" (Testinformasjon) og "Plots" (Plotter).
3. Klikk på "Print" (Skriv ut) for å skrive ut rapporten, eller klikk på "Export" (Eksporter) for å eksportere en PDF av rapporten til en USB-enhet.

Slik eksporterer du resultatene:

1. Klikk på knappen "Export" (Eksporter) for å overføre rapporten (PDF- og CSV-fil) til en USB-enhet.
2. Når eksporten er fullført, vises ikonet for vellykket/mislykket i vinduet "Results Export" (Eksport av resultater).

9. Tolkning av resultater

For en detaljert beskrivelse av hvordan du analyserer dataene, se brukerhåndboken for BD MAX™ System.

Dataanalysen utføres av BD MAX™-programvaren i henhold til produsentens instruksjoner. BD MAX™-programvaren rapporterer Ct-verdier og amplifikasjonskurver for hver detektorkanal for hver prøve som testes, på følgende måte:

- En Ct-verdi på 0 indikerer at programvaren ikke beregnet noen Ct-verdi med den angitte terskelen (se tabell 5). En amplifikasjonskurve av prøven som viser en Ct-verdi på 0, må sjekkes manuelt.
- En Ct-verdi på -1 indikerer at det ikke har funnet sted noen amplifiseringprosess, at det ikke ble beregnet noen Ct-verdi av programvaren eller at den beregnede Ct-verdien er under den angitte terskelverdien eller over den fastsatte maksimale Ct-verdien (Cut-off).
- Alle andre Ct-verdier må tolkes i sammenheng med amplifikasjonskurven og i henhold til resultatlogikken, i henhold til retningslinjene for tolkning av prøver, som er angitt i tabell 14.

Sjekk signalet for endogen intern kontroll (EIC) for å kontrollere at amplifiseringsblandingen fungerer som den skal. Sjekk også at det ikke finnes noen rapport om systemfeil i BD MAX™ System.

Bruk tabellen under til å lese av og analysere resultatene:

HSV-1 (navn på mål: HSV1)	HSV-2 (navn på mål: HSV2)	<i>T. pallidum</i> (navn på mål: TRE)	Tolkning for individuelle pasientprøver
POS	POS	POS	DNA fra HSV-1, HSV-2 og <i>Treponema pallidum</i> påvist.
POS	POS	NEG	DNA fra HSV-1 og HSV-2 påvist. DNA fra <i>Treponema pallidum</i> ikke påvist.
POS	NEG	POS	DNA fra HSV-1 og <i>Treponema pallidum</i> påvist. DNA fra HSV-2 ikke påvist.
NEG	POS	POS	DNA fra HSV-2 og <i>Treponema pallidum</i> påvist. DNA fra HSV-1 ikke påvist.
POS	NEG	NEG	DNA fra HSV-1 påvist. DNA fra HSV-2 og <i>Treponema pallidum</i> påvist.
NEG	POS	NEG	DNA fra HSV-2 påvist. DNA fra HSV-1 og <i>Treponema pallidum</i> ikke påvist.
NEG	NEG	POS	DNA fra <i>Treponema pallidum</i> påvist. DNA fra HSV-1 og HSV-2 ikke påvist.
NEG	NEG	NEG	DNA fra HSV-1, HSV-2 og <i>Treponema pallidum</i> ikke påvist.
UNR	UNR	UNR	UNR = Uavklart resultat oppnådd på grunn av hemmere i PCR-reaksjonen, eller når det oppstår et generelt problem (ikke rapportert av en feilkode) med et prøvebehandlings- eller amplifiseringstrinn. ¹
IND	IND	IND	IND = Ubestemmelig analyseresultat. Skyldes systemfeil i BD MAX™ System. Analyseresultatet vises i tilfeller med instrumentfeil knyttet til en feilkode. ²
INC	INC	INC	INC = Ufullstendig analyseresultat. Skyldes systemfeil i BD MAX™ System. Analyseresultatet vises i tilfeller med ikke fullført kjøring. ²

Tabell 14. Tolkning av prøve.

1 Den endogene interne kontrollen (EIC) må vise et amplifiseringssignal med Ct-verdi på ≤ 40 for å bli vurdert. Hvis det ikke er noe signal for EIC eller Ct-verdi > 40 , anses resultatet som uavklart (UNR), og det kreves en ny test. Det anbefales å gjenta analysen fra samme Sample Buffer Tube (prøvebufferrør) (SBT), fra samme prøve med et nytt SBT eller fra en ny prøve (mer konsentrert, hvis mulig). Det kan også hende at et uavklart (UNR) resultat skyldes tilstedeværelse av hemmere i PCR-reaksjonen. I slike tilfeller anbefales det å fortynne disse prøvene 1/10.

MERK: Naturlige naturlige hudlesjonsprøver kan oppbevares uten overføring til SBT i opptil 48 timer hvis de oppbevares ved 2 ± 2 °C til 25 ± 2 °C (angitt i ESwab® fra Copan). Ved retesting fra samme SBT anbefales det å manuelt riste SBT for å sikre korrekt homogenisering av prøven. Vær oppmerksom på at naturlige hudlesjonsprøver kan oppbevares i SBT i opptil 7 dager ved 2 ± 2 °C til 25 ± 2 °C.

2 Ubestemte (IND) eller ufullstendige (INC) resultater kan oppnås på grunn av systemfeil, og det kreves ny testing. Se brukerveiledningen for BD MAX™ System for å finne informasjon om tolkning av varsel- og feilkoder.

Merk: Ved bruk av eksterne kontroller skal disse gi følgende forventede resultater: negative for ENC og positive for EPC (kjente positive prøver forventes å være positive kun for mikroorganismene som er til stede i prøven). En ENC som gir et positivt testresultat, indikerer en kontamineringshendelse eller feil med prøvehåndteringen. En EPC som gir et negativt resultat indikerer et problem med prøvehåndteringen/-prepareringen. Gå gjennom teknikken for prøvehåndtering/-preparering. Når det oppstår en feil med en ekstern kontroll, kreves det en ny test.

Ved vedvarende uklare resultat anbefales det å lese gjennom bruksanvisningen og gjennomgå ekstraksjonsprosessen som benyttes av brukeren; å bekrefte riktig bruk av hvert PCR-trinn og revidere parametrene; samt kontrollere sigdformen på kurven og fluoriseringens intensitet.

Testresultatene skal evalueres av helsepersonell i sammenheng med sykehistorikk, kliniske symptomer og andre diagnostiske tester.

10. Testens begrensninger

- Testresultatene skal evalueres av helsepersonell i sammenheng med sykehistorikk, kliniske symptomer og andre diagnostiske tester.
- Selv om denne analysen kan brukes med andre typer prøver, har den kun blitt validert med anogenitale og orale prøvepensler.
- Det lyofiliserte produktet må være i bunnen av røret og ikke klebet til toppområdet eller folietetningen for en vellykket utførelse. Dunk forsiktig hvert rør mot en hard overflate for å sikre at alt produktet ligger i bunnen av røret.
- Mulig krysstale kan observeres i tomme kanaler i BD MAX™ System dersom det ikke er noe mål å påvise, slik at det er nødvendig å velge kun de kanalene der disse er amplifisert når tolkning av resultatene utføres. Kontakt viasuresupport@certest.es hvis du har spørsmål.
- Kvaliteten på testen avhenger av kvaliteten på prøven; nukleinsyre må ekstraheres på riktig måte fra kliniske prøver.
- Prøven er en kvalitativ test og gir ingen kvantitative verdier eller indikerer mengden av organismer i prøven. Det er ikke mulig å korrelere Ct-verdiene oppnådd med CPR med konsentrasjonen av prøven, ettersom disse avhenger av hvilken termosykler som brukes og selve kjøringen.
- Ekstremt lave målenivåer som ligger under påvisningsgrensen vil muligens bli påvist, men resultatene vil ikke kunne reproduseres.
- Vær oppmerksom på analysens tiltenkte måleområde, ettersom prøver med konsentrasjoner over eller under dette området kan gi feilaktige resultater.
- Det finnes en mulighet for falske positive resultater grunnet krysskontaminering av HSV-1, HSV-2 og/eller *T. pallidum*, enten prøver som inneholder høye konsentrasjoner av mål-DNA, eller kontaminering grunnet PCR-produkter fra tidligere reaksjoner.
- De spesifikke kombinasjonene av primer og probe for påvisning av *glykoprotein L* som kodes for av *UL1*-genet til HSV-1, *glykoprotein G* som kodes for av *US4*-genet til HSV-2 og *16S rRNA*-genet til *T. pallidum*, som brukes i VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, viser ikke signifikante kombinerte homologier med det humane genomet, human mikroflora eller andre mikroorganismer, som kunne resultere i forutsigbare falske positive resultater.
- Falske negative resultater kan komme av flere faktorer og kombinasjoner av disse faktorene, inkludert følgende:
 - Feilaktig innsamling, transport, oppbevaring, og/eller håndtering av prøvematerialet.
 - Feilaktig prosedyrebehandling (inkludert DNA-ekstraksjon).
 - Nedbrytning av DNA gjennom transport/oppbevaring og/eller behandling av prøvematerialet.

- Mutasjoner eller polymorfismer i primer- eller probebindingsregioner kan påvirke påvisningen av nye eller ukjente stammer av HSV-1, HSV-2 og/eller *T. pallidum*.
- En mikrobemengde i prøven, som er under grensen for påvisning i analysen.
- Forekomst av qPCR-hemmere eller andre typer forstyrrende substanser. Påvirkning fra vaksiner, enkelte antivirale legemidler, antibiotika, kjemoterapeutika og immunsuppressive legemidler eller antifungaler som brukes til å forhindre infeksjonen eller til behandling av infeksjonen, har ikke blitt evaluert.
- Effekten av interfererende substanser har bare blitt evaluert for de som er angitt i avsnitt 12.5.1 (Studie på interfererende substanser) i denne bruksanvisningen. Se dette avsnittet for å få informasjon om de vanligste endogene og eksogene stoffene som gir total eller delvis interferens av qPCR-analyse. Andre substanser som ikke er angitt i denne delen, kan føre til feilaktive resultater.
- Bruksanvisningen og analyseprosedyren ble ikke fulgt.
- En positiv test indikerer ikke nødvendigvis tilstedeværelse av levedyktige mikroorganismer og antyder ikke at mikroorganismer er infeksiose, eller at de er årsaken til kliniske symptomer. Men en positiv test indikerer tilstedeværelsen av målsekvensene for HSV-1, HSV-2 og/eller *T. pallidum*.
- Negative resultater utelukker ikke tilstedeværelse av DNA fra HSV-1, HSV-2 og/eller *T. pallidum* i en klinisk prøve og må ikke brukes som det eneste grunnlaget for behandling eller andre bestemmelser relatert til behandling av pasienter. Optimale prøvetyper og tiden for høyeste mikrobe nivå under infeksjoner forårsaket av HSV-1, HSV-2 og/eller *T. pallidum* har ikke blitt fastslått. Innsamling av flere prøver (typer og tidspunkter) fra samme pasient kan være nødvendig for å påvise patogenet.
- Dersom diagnostiske tester for seksuelt overførbare sykdommer er negative og kliniske symptomer og epidemiologiske informasjon antyder en mulighet for infeksjon med HSV-1, HSV-2 og/eller *T. pallidum*, bør et falskt negativ resultat vurderes og en ny testing av pasienten bør diskuteres.
- Fluorescensverdier kan variere på grunn av flere faktorer, som blant annet: PCR-utstyr (også med samme modell), ekstraheringssystem, prøvetype, tidligere behandling av prøven osv.
- Positive og negative prediktive verdier er svært avhengige av prevalens i alle *in vitro*-diagnostetester. Ytelsen til VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kan variere avhengig av prevalensen og populasjonen som testes.
- Ved uavklarte, ubestemte eller ufullstendige resultater ved bruk av VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, må testen gjentas. Uavklarte resultater kan skyldes tilstedeværelse av hemmere i prøven eller en ukorrekt rehydrering av røret med lyofilisert reaksjonsblanding. Hvis det oppstår instrumentsvikt, vil resultatene som oppnås være ubestemte eller ufullstendige.

11. Kvalitetskontroll

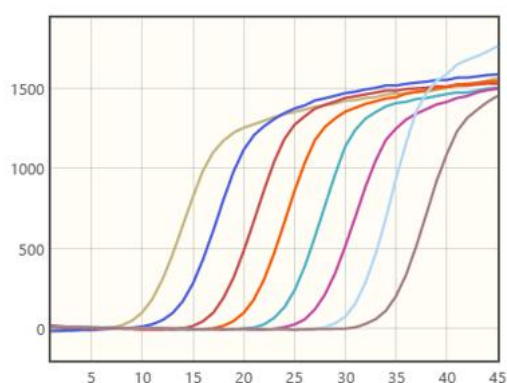
VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System inneholder en endogen intern kontroll (EIC) i hvert reaksjonsrør som bekrefter at teknikken fungerer som den skal. Bruk av eksterne kontroller (EPC og ENC) gjør det også mulig å bekrefte testytelsen. Eksterne kontroller brukes ikke av BD MAX™ System for tolkning av resultater, men betraktes som en prøve. Ekstern positiv kontroll (EPC) er ment å overvåke en potensiell svikt i testreagensene, mens ekstern negativ kontroll (ENC) er ment å oppdage miljø- eller reagenskontaminering av målnukleinsyrer.

12. Egenskaper for analytisk ytelse

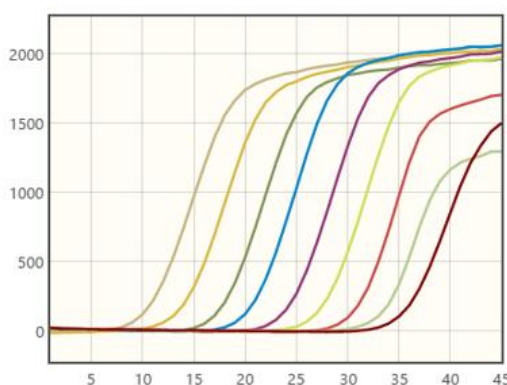
12.1. Analytisk linearitet

Analysens linearitet ble bestemt og bekreftet ved å teste en serie tidobles fortynninger av kunstig hudlesjonsmatriks⁴ (Artificial Matrix for Cutaneous Lesion, Biochemazone BZ394) som inneholder en kjent konsentrasjon (fra $2E+07$ til $2E+01$ kopier/ μ l) av spesifikt og syntetisk DNA som tilhører HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum*. Eksempel på amplifiseringsplottet som resulterte fra en analyse er inkludert under:

Figur 2. Fortynningsserie med HSV-1-mal ($2E+07$ til $2E+01$ kopier per μ l) kjørt på BD MAX™ System (475/520 (FAM)-kanal).

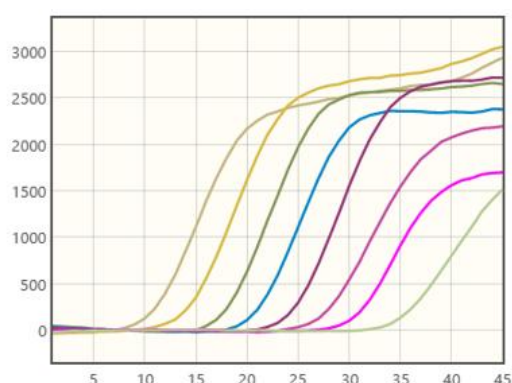


Figur 3. Fortynningsserie med HSV-2-mal ($2E+07$ til $2E+01$ kopier/ μ l) kjørt på BD MAX™ System (kanal 530/565 (HEX)).



⁴ På grunn av begrenset tilgjengelighet av anogenitale og orale prøver av hudlesjoner ble det utført en ekvivalensstudie av naturlig matriks versus kunstig matriks for å bekrefte at den kunstige matriksen kunne brukes i valideringsanalyser. Derfor ble både naturlige og kunstige matrikser testet og bekreftet å være likeverdige.

Figur 4. Fortynningsserie med *T. pallidum*-mal (2E+07 til 2E+01 kopier/μl) kjørt på BD MAX™ System (kanal 630/665 (Cy5)).



12.2. Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet omtales ofte som deteksjonsgrensen (LoD). I praksis bestemmes LoD- og LoB-parametere som en del av evalueringen av analytisk sensitivitet.

12.2.1. Blankgrense (LoB)

For å bestemme blankgrensen (LoB) ble det utført en kontrollanalyse uten mal ved bruk av tre partier av VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System og 24 replikater av tre typer prøver: negative prøver av naturlige hudlesjoner, matriks av kunstige hudlesjoner og RNase-/DNase-fritt vann.

Fraværet av signal i FAM-, HEX- og Cy5-kanalene ble verifisert, samt tilstedeværelsen av signal for den endogene interne kontrollen (EIC) i ROX-kanalen i tilfelle av negativ matriks (naturlig eller syntetisk hudlesjonsmatriks). Konklusjonen er at de oppnådde resultatene bekreftet at produktet ikke genererer uspesifikke amplifikasjoner i de ulike matriksene som ble testet.

12.2.2. Deteksjonsgrense (LoD)

Deteksjonsgrensen (LoD) for VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ble analysert med tre partier ved bruk av naturlige hudlesjonsprøver. Referansestammene som ble brukt, var humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493, ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus type 2, stamme MS (ref. 0810006CF (Zeptomatrix)) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University). Konklusjonen er at VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System viste en LoD på 2,52E+02 TCID50/ml for HSV-1, 6,30E+00 TCID50/ml for HSV-2 og 6,60E+03 celler/ml for *T. pallidum*, med en positiv rate på ≥ 95 % ved bruk av naturlige hudlesjonsprøver.

12.3. Måleområde

Analysens måleområde ble fastslått ved å teste en serie med tidoble fortynninger med kjent konsentrasjon av spesifikt DNA fra HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum*. Resultatene gjorde det mulig å bekrefte korrekt påvisning av målet fra 2E+07 til 2E+00 kopier/μl for HSV-1- og *T. pallidum*-mål, og fra 2E+07 til 2E+01 kopier/μl for HSV-2-mål.

Konklusjonen er at måleområdet for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ble fastsatt, noe som sikrer pålitelige, nøyaktige og reproducerbare resultater over et bredt spekter av virus-/mikrobebelastninger og bekrefter nytten i ulike kliniske diagnosescenarioer.

12.4. Nøyaktighet

12.4.1. Riktighet

Påliteligheten til VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ble evaluert ved å teste referansematerialet som er oppført nedenfor, tilsatt i hudlesjonsmatriks.

1. Syntetiske DNA-fragmenter

- Syntetisk DNA-fragment for *glykoprotein L* som kodes for av *UL1-genet* til HSV-1: HSV1.XPC, FAM-kanal.
- Syntetisk DNA-fragment for *glykoprotein G* som kodes for av *US4-genet* til HSV-2: HSV2.XPC, HEX-kanal.
- Syntetisk DNA-fragment for *16S rRNA-genet* til *T. pallidum*: TREXPC, Cy5-kanal.

Alle de syntetiske DNA-fragmentene ble korrekt påvist i den aktuelle kanalen.

2. Amerikansk samling av kulturtyper (ATCC®)

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

Tabell 15. Referansemateriale fra amerikansk samling av kulturtyper (ATCC®).

Alle stammene fra ATCC ble korrekt påvist i den aktuelle kanalen, og EIC viste amplifikasjon med en Ct-verdi på ≤ 40 , bortsett fra kvantitativ syntetisk *Treponema pallidum* DNA (ATCC-kode BAA-2642SD). Dette syntetiske DNA-et inkluderer fragmenter av *polA*-genet, *23S*-genet, *16S*-genet, *flaA*, *47kDa* protein-genet og *bmp*, men fraværet av påvisning ved svært høy konsentrasjon (opptil $4,70 \times 10^4$ kopier/ μ l) ved bruk av VIASURE-analysen antyder at målregionen innen *16S*-genet ikke er inkludert i det syntetiske DNA-et fra ATCC. Derfor kan det ikke brukes som referansemateriale.

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

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

Tabell 16. Referansemateriale fra National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC).

Alle stammene fra NIBSC ble korrekt påvist i den aktuelle kanalen, og EIC viste amplifikasjon med en Ct-verdi på ≤ 40 .

4. Kontrollmateriale

Ekstern referanse	Opprinnelse	Mikroorganisme	Produktnavn	Variant	Resultat
0810006CF	ZeptoMetrix	Herpes simplex-virus 2	Herpes simplex-virus type 2 (HSV-2)	Stamme MS	Påvist
MBC109	Vircell S.L.	<i>Treponema pallidum</i>	AMPLIRUN® TREPONEMA PALLIDUM DNA CONTROL	I/R	Påvist
I/R	University of Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	Nichols-stamme	Påvist
I/R	University of Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	SS14-stamme	Påvist

Tabell 17. Kontrollmateriale for HSV-2 og *T. pallidum* fra Vircell S.L, ZeptoMetrix og University of Washington.

Alle stammene og referansematerialet ble korrekt påvist i den aktuelle kanalen, og EIC viste amplifikasjon med en Ct-verdi på ≤ 40 .

12.4.2. Presisjon

For å fastslå presisjonen til VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ble intra-analyse (repereterbarhet), inter-analyse, inter-batch- og inter-utstyr (reproduserbarhet) utført med kunstig hudlesjonsmatriks tilsatt referansestammene Human herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus type 2, stamme MS (Ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University).

Intra-analyse

Intra-analysen ble testet ved å analysere replikater av alle prøver i den samme kjøringen ved bruk av VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Et sammendrag av resultatene er vist i tabellen under.

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

Tabell 18. Resultater for intra-analyse av VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = terskelsyklus. ($\bar{x}$) = gjennomsnittlig aritmetisk Ct-verdi, (σ) = standardavvik, (CV %) = variasjonskoeffisient, NEG = negativ, I/R = ikke relevant.

Inter-analyse

Inter-analyse ble fastslått ved å teste replikater av de ulike prøvene på tre ulike dager, utført av tre ulike operatører, ved bruk av VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Et sammendrag av resultatene er vist i tabellen under.

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

Tabell 19. Resultater for inter-analyse av VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = terskelsyklus. ($\bar{x}$) = gjennomsnittlig aritmetisk Ct-verdi, (σ) = standardavvik, (CV %) = variasjonskoeffisient, NEG = negativ, I/R = ikke relevant.

Inter-batch

Inter-batch-verdiene ble fastslått med seks replikater av de ulike prøvene ved å bruke tre partier av VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Et sammendrag av resultatene er vist i tabellen under.

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

Tabell 20. Resultater for inter-batch for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = terskelsyklus. ($\bar{x}$) = gjennomsnittlig aritmetisk Ct-verdi, (σ) = standardavvik, (CV %) = variasjonskoeffisient, NEG = negativ, I/R = ikke relevant.

Inter-utstyr

Inter-utstysrverdiene ble fastslått med tre replikater av de samme prøvene som ble brukt for intra-analyse, inter-analyse og inter-parti, ved bruk av VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System og tre ulike BD MAX™ System. Et sammendrag av resultatene er vist i tabellen under.

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

Tabell 21. Resultater for inter-utstyr for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = terskelsyklus. ($\bar{x}$) = gjennomsnittlig aritmetisk Ct-verdi, (σ) = standardavvik, (CV %) = variasjonskoeffisient, NEG = negativ, I/R = ikke relevant.

Konklusjonen er at presisjonsstudien bekreftet den pålitelige ytelsen og konsistensen til VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

12.4.3. Nøyaktighet

Nøyaktighetseksperimentet ble utført gjennom analyse av paneler fra eksterne kvalitetsvurderingsprogrammer (EQA-programmer). Prøver som inneholdt HSV-1, HSV-2 eller *T. pallidum*, blant andre mikroorganismer som ikke var målet, ble analysert. Alle testresultatene vist i tabellen nedenfor, ble sammenlignet med de endelige rapportene fra arrangørene av EQA-programmene.

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

Tabell 22. Nøyaktighetsresultater ved bruk av VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (ORA) = total overensstemmelse, (TP) = sann positiv, (TN) = sann negativ, (FP) = falsk positiv, (FN) = falsk negativ, (PPA) = positiv prosentvis overensstemmelse, (NPA) = negativ prosentvis overensstemmelse.

Konklusjonen er at VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System gir høy nøyaktighet ved påvisning av DNA fra HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum*, med utmerkede NPA- og PPA-verdier på tvers av alle testede stammer.

12.5. Analytisk spesifisitet og reaktivitet

Analytisk spesifisitet og analytisk reaktivitet ble evaluert for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System *in silico* og eksperimentelt, ved bruk av ulike startmaterialer som sertifiserte referansestammer, sertifisert referanse-RNA/-DNA og materiale fra EQAS-programmene.

12.5.1. Analytisk spesifisitet

Analytisk spesifisitet er analysemetodens evne til å påvise det tiltenkte målet. Fire komponenter må vurderes for analytisk spesifisitet: kryssreaktivitet, samtidig infeksjon, interferens fra mikrobielle agenter og interferens fra substanser. Kryssreaktivitet kan forekomme når genetisk beslektede mikroorganismer er til stede i en pasientprøve, mens mikrobiell interferens kan oppstå hvis disse genetisk beslektede mikroorganismene endrer påvisningen av mål-mikroorganismene når de er til stede. Tilsvarende har studier av samtidig infeksjon som mål å vurdere om mål-mikroorganismer ved ulike konsentrasjoner i samme prøve kan endre påvisningen mellom dem. Til slutt kan substansinterferens oppstå hvis tilstedeværelsen av spesifikke substanser som potensielt er til stede i prøvegrunnet, påvirker ytelsen til qPCR.

Analyse av kryssreaktivitet *in silico*

Kryssreaktiviteten ble vurdert ved å bruke referansesekvenser av patogenene fra NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) og justeringsverktøy som BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) og en intern programvare for bioinformativ analyse.

Resultatene som skal vises indikerer bare sekvenser som har en overensstemmelse på mer enn 80 %. Innrettede sekvenser med en innretting på mindre enn 80 % overensstemmelse, ble ansett å ikke bli påvist.

Treponema pallidum

Alle analyserte sekvenser hadde under 80 % overensstemmelse med primere og probesett for *T. pallidum*.

In silico-analyse av kryssreaktivitet avdekket 100 % overensstemmelse med *Treponema paraluiscluniculi* (Taxid-ID: 53435 og 545766). Imidlertid, ifølge et NCBI-søk, ble disse sekvensene funnet å være heterotypiske eller taksonomiske synonymer og tilsvarer også *Treponema pallidum*.

Derfor kan ingen av de analyserte sekvensene, inkludert de som viser overensstemmelse høyere enn 80 %, påvirke korrekt påvisning av *Treponema pallidum*.

Humant alfaherpesvirus 1

Alle analyserte sekvenser hadde under 80 % overensstemmelse med primere og probesett for HSV-1.

In silico-analyse av kryssreaktivitet avdekket 98,33 % overensstemmelse med alfa-1-herpesvirus hos sjimpanser, stamme 105640 (Taxid-ID: 332937). Verten for denne stammen av alfaherpesvirus er sjimpansen (*Pan troglodytes*). Herpesvirus er svært vertsspesifikke og deler en lang, synkron evolusjon med vertene sine. Dette viruset har ikke blitt identifisert hos mennesker og regnes ikke som et zoonotisk virus på nåværende tidspunkt, så det forstyrrer ikke påvisningen av HSV-1.

Derfor kan ingen av de analyserte sekvensene, inkludert de som viser overensstemmelse høyere enn 80 %, påvirke korrekt påvisning av HSV-1.

Humant alfa herpesvirus 2

Alle analyserte sekvenser hadde under 80 % overensstemmelse med primere og probesett for HSV-2.

Konklusjonen er at HSV-1-, HSV-2- og *T. pallidum*-måldesignene for VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ikke bør forårsake falske positive resultater ved påvisning av *Treponema pallidum*, humant alfa herpesvirus 1 og humant alfa herpesvirus 2 når andre organismer er til stede.

Eksperimentell testing av spesifisitet

Kryssreaktivitet: eksperimentell testing

Kryssreaktiviteten til VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ble bekreftet ved å teste et panel av ulike mikroorganismer forbundet med symptomer på seksuelt overførbare infeksjoner eller miljømessig og fylogenetisk relevante mikroorganismer. Når det var mulig og konsentrasjonsdataene tilgjengelige, ble interfererende mikroorganismer evaluert på medisinsk relevante nivåer (vanligvis 1E+05–1E+06 cfu (kolonidannende enheter)/ml for bakterier/fungi og 1E+04–1E+05 pfu (plakkdannende enheter)/ml for virus). Ingen kryssreaktivitet ble påvist mellom noen av de følgende testede mikroorganismene, bortsett fra mikroorganismene som ble vurdert.

Test av kryssreaktivitet					
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	-	<i>Haemophilus influenzae</i> stamme L-378	-	<i>Listeria monocytogenes</i> , serotype 4b	-
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius 1863 CECT 2071	-	Hepatitt A HM175/18f	-	Apekoppvirus	-
<i>Atopobium vaginae</i>	-	Herpes simplex-virus type 1 1st WHO IS for HSV-1	+	<i>Mycoplasma genitalium</i> , stamme M30	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	Herpes simplex-virus type 2 1st WHO IS for HSV-2	+	<i>Mycoplasma hominis</i> , stamme LBD-4	-
<i>Candida albicans</i>	-	Herpesvirus 2, stamme MS	+	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , stamme NCTC 8375 [B 5025]	-
<i>Candida glabrata</i>	-	Humant herpesvirus 1, stamme HF	+	<i>Neisseria meningitidis</i> , stamme M2091	-
<i>Candida krusei</i> , <i>Issatchenkia orientalis</i> Kudryavtsev 1960 CECT 1433	-	Humant herpesvirus 1, stamme F	+	<i>Proteus mirabilis</i> , NCDC 2059-70	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	Humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC-VR-1493)	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , stamme RH 815	-
<i>Candida tropicalis</i> (Castellani) Berkhout 1923 CECT 1005	-	Humant herpesvirus 1, stamme MacIntyre	+	<i>Serratia marcescens</i> , subsp. <i>marcescens</i>	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> , serotype E	-	Humant herpesvirus 2, stamme ATCC-2011-2	+	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>Aureus</i> , stamme Seattle 1945	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	Humant herpesvirus 2, stamme G	+	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , stamme 810-2	-
<i>Enterobacter cloacae</i> , subsp. <i>cloacae</i>	-	Humant papillomavirus 16	-	<i>Treponema pallidum</i> DNA Control, Vircell	+
<i>Enterococcus faecalis</i> , type stamme CECT 8120	-	Humant papillomavirus 18	-	<i>Treponema pallidum</i> , stamme Nichols	+
<i>Enterococcus faecium</i> vanA, stamme CECT 5253	-	<i>Klebsiella oxytoca</i> , stamme MIT 10-5243	-	<i>Treponema pallidum</i> , stamme SS14	+
Epstein-Barr Virus 1st WHO IS for Epstein-Barr-Virus EBV	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , stamme UHKPC57	-	<i>Trichomonas vaginalis</i> , QCMD TV18S-01	-

Test av kryssreaktivitet					
<i>Escherichia coli</i> , type stamme	-	<i>Listeria innocua</i>	-	<i>Ureaplasma urealyticum</i> , T-stamme 960 (CX8) [960, CIP 103755, NCTC 10177]	-
<i>Gardnerella vaginalis</i> , 594 [NCTC 10287]	-	<i>Listeria ivanovii</i> subsp. londoniensis	-	Varicella Zoster-virus, stamme Ellen	-
<i>Haemophilus ducreyi</i> , klasse I	-	<i>Listeria monocytogenes</i> , serotype 1/2	-		

Tabell 23. Referansepatogene mikroorganismer inkludert i kryssreaktivitetstesten. +/- resultatet henviser til det positive eller negative resultatet som ble oppnådd i de ulike kanalene, avhengig av hvilket mål som ble påvist. Dersom en mikroorganisme som testes, er et av målene som påvises av enheten, oppnås et positivt resultat i den tilsvarende kanalen, men et negativt resultat i de andre kanalene.

Konklusjonen er at resultatene fra kryssreaktivitetsanalyser indikerer høy spesifisitet for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, og dette reduserer dermed risikoen for falske positive resultater. Siden det ikke ble observert ikke-spesifikke amplifikasjoner med andre relaterte mikroorganismer, antyder dette at enheten er i stand til å nøyaktig skille mellom målene.

Studie av samtidig infeksjon

En studie av samtidig infeksjon ble utført ved bruk av humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493, ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus type 2, stamme MS (ref. 0810006CF (Zeptomatrix)) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University) i forskjellige konsentrasjoner, for å bekrefte at tilstedeværelsen av noen av dem, uavhengig av konsentrasjonen, ikke endrer påvisningen mellom dem. Tre negative matriksprøver av naturlige hudlesjoner tilsatt referansematerialet, ett mål ved lav konsentrasjon (3xLoD) og de andre målene ved svært høy konsentrasjon, vanligvis 1E+04–1E+05 enheter/ml, ble analysert.

Resultatene bekrefter at påvisningen av de målrettede mikroorganismene ikke endres når de analyseres med VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ved samtidig infeksjon med ulike konsentrasjoner.

Studie av interfererende mikrobielle agenter

Det ble utført en studie av mikrobiell interferens for å analysere potensielt interfererende mikrobielle agenter for VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Et panel med mikroorganismer av ulik klinisk, miljømessig og fylogenetisk relevans ble testet i nærvær av målpatogenene *HSV-1*, *HSV-2* og *T. pallidum* ved bruk av negative matriksprøver av naturlige hudlesjoner tilsatt humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493, ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus type 2, stamme MS (ref. 0810006CF (Zeptomatrix)) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University). Når det var mulig og konsentrasjonsdataene tilgjengelige, ble interfererende virus, bakterier og/eller fungi evaluert på medisinsk relevante nivåer (vanligvis 1E+05–1E+06 cfu/ml for bakterier/fungi og 1E+04–1E+05 pfu/ml for virus).

Positive matrikskontroll og negativ matrikskontroll (Positive Matrix Control, PMC og Negative Matrix Control, NMC, henholdsvis) er inkludert som kontroller for testen. PMC tilsvarer den negative matriksen tilsatt spesifikke målstammer uten noen interfererende mikroorganismer, mens NMC tilsvarer den negative matriksen uten noen interfererende mikroorganismer.

Navn på mikroorganisme	Konsentrasjon testet	Resultat
PMC	I/R	N.I
NMC	I/R	N.I
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Ikke tilgjengelig	N.I
<i>Atopobium vaginae</i>	4,52E+03 cfu/μl	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+03 cfu/μl	N.I
<i>Candida glabrata</i>	2,46E+03 cfu/μl	N.I
<i>Candida parapsilosis</i>	Ikke tilgjengelig	N.I
<i>Candida tropicalis</i>	3,04E+04 cp/μl	N.I
<i>Chlamydia trachomatis, serotype E</i>	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 IE/ml	N.I
<i>Gardnerella vaginalis</i> , 594 [NCTC 10287]	4,40E+05 cfu/ml	N.I
<i>Haemophilus ducreyi</i> , klasse I	1,40E+02 cp/μl	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,20E+03 cfu/μl	N.I
Hepatitt A	2,80E+03 TCID50/μl	N.I
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Ikke tilgjengelig	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ikke tilgjengelig	N.I
<i>Listeria innocua</i>	Ikke tilgjengelig	N.I
<i>Listeria ivanovii</i> , subsp.. londoniensis	Ikke tilgjengelig	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 4031)	2,90E+03 cfu/μl	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 935)	2,70E+03 cfu/μl	N.I
<i>Mycoplasma hominis</i>	4,40E+03 cfu/μl	N.I
<i>Mycoplasma genitalium</i>	3,80E+03 cfu/μl	N.I
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6,20E+03 cfu/μl	N.I
<i>Neisseria meningitidis</i>	5,70E+04 cfu/μl	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+04 cfu/μl	N.I
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,60E+04 cfu/μl	N.I
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9,20E+03 cfu/μl	N.I
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2,00E+04 cfu/μl	N.I
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	8,10E+05 cfu/ml	N.I
<i>Bacteroides fragilis</i>	3,40E+02 cp/μl	N.I
<i>Enterococcus faecalis</i> , type stamme	5,00E+05 cfu/ml	N.I
<i>Enterococcus faecium</i> , vanA	3,50E+05 cfu/ml	N.I
Humant papillomavirus 16	1.00E+03 IU/μl	N.I
Humant papillomavirus 18	1.00E+03 IU/μl	N.I
<i>Serratia marcescens</i>	2,30E+05 cfu/ml	N.I
Varicella-Zoster-virus	7,26E+04 cfu/ml	N.I
<i>Citrobacter freundii</i> , type stamme	6,20E+02 cfu/μl	N.I
<i>Escherichia coli</i> , type stamme	5,20E+02 cfu/μl	N.I
<i>Proteus mirabilis</i>	2,55E+01 cfu/μl	N.I
Apekoppevirus	1,50E+03 cp/ml	N.I

Tabell 24. Analyse av interfererende mikroorganismer. N.I. = ingen interferens, (PMC) = positiv matrikskontroll, (NMC) = negativ matrikskontroll, (TCID50): Tissue Culture Infectious Dose 50 %, (IU): internasjonale enheter, (cfu): kolonidannende enheter, (cp): kopier, (IFU): infeksjonsenhet.

Konklusjonen er at det ikke ble observert noen interferens ved påvisning av nukleinsyren med noen av de testede mikroorganismene.

Studie av interfererende substanser

Det ble utført en studie av interfererende substanser for å teste den potensielle interfererende effekten av endogene og eksogene substanser på VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Totalt 22 potensielt interfererende substanser ble tilsatt den negative matriksen av naturlige hudlesjoner beriket med referansestammene: humant herpesvirus 1, stamme KOS (ATCC® VR-1493, ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus type 2, stamme MS (ref. 0810006CF (Zeptomatrix)) og *Treponema pallidum*, stamme SS14 (Washington University), og evaluert med seks replikater.

Positive matrikskontroll og negativ matrikskontroll (Positive Matrix Control, PMC og Negative Matrix Control, NMC, henholdsvis) er inkludert som kontroller for testen. PMC tilsvarer den negative matriksen tilsatt spesifikke målstammer uten noen interfererende substanser, mens NMC tilsvarer den negative matriksen uten interfererende substanser eller tilsatte mikroorganismer/referansemateriale. Følgende resultater ble oppnådd:

Navn på substans	Konsentrasjon testet	Resultat
PMC	I/R	N.I.
NMC	I/R	N.I.
Acyclovir	6,60E-02 mg/ml	N.I.
Albumin	1,00E+01 mg/ml	N.I.
Fullblod	1,00E+00 % (v/v)	N.I.
Leukocytter/monocytter	1,00E+06 celle/ml	N.I.
Mucin	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Clamiox (hydrokortison)	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Neosayomol (difenhydramin)	3,87E-02 mg/ml	N.I.
Letibalm (leppepomade)	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Kasein	7,00E+00 mg/ml	N.I.
Hemoal (benzokain)	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.
Kvinnelig urin	1,00E+01 % (v/v)	N.I.
Mannlig urin	1,00E+01 % (v/v)	N.I.
Avføring	2,20E-01 % (v/v)	N.I.
Sædvæske	5,00E+00 % (v/v)	N.I.
Halibut	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Vagisil-krem	7,50E-01 mg/ml	N.I.
Maisstivelse	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Talquistina	2,64E+00 % (v/v)	I
	6,60E-01 % (v/v)	I
	3,30E-01 % (v/v)	I
	1,70E-01 % (v/v)	N.I.
Tiokonazol	2,50E+00 mg/ml	N.I.

Tabell 25. Potensielt interfererende substanser. N.I: Ingen rapporterbar interferens / I: Interferer.

Ulike potensielt interfererende substanser, både endogene og eksogene, ble testet på VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Det ble observert interferens ved testing av SOIVRE Intim Oil ved 50 µl/ml og Talquistina ved 2,64 % (v/v). Fortynninger ble utført til man nådde den konsentrasjonen der disse interferenseffektene ikke lenger ble observert: 12,5 µl/ml for SOIVRE Intim Oil og 0,17 % (v/v) for Talquistina. Resultatene som ble oppnådd, førte til konklusjonen at det ved de testede endelige konsentrasjonene ikke ble observert interferens fra noen av de evaluerte substansene.

12.5.2. Analytisk reaktivitet

Analytisk reaktivitet kan defineres som prosentandelen av mikrobemålstammer eller DNA/RNA-prøver som gir korrekt positivt resultat. Analytisk reaktivitet ble studert *in silico* og ved eksperimentelle tester.

Analyse av analytisk reaktivitet *in silico*

Den analytiske reaktiviteten til VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ble vurdert ved hjelp av offentlige tilgjengelige nukleotidsekvensdatabaser som NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) og intern programvare for bioinformativ analyse for å demonstrere at målgenene kan påvises av enheten som skal evalueres. *In silico*-analyse av primer- og probedesign ble utført gjennom justering mot totalt 4941 analyserte sekvenser (sekvenser lastet ned fra databasen med fjernede duplikater) for *T. pallidum*, 9779 for *HSV-1* og 8689 for *HSV-2*. Resultatene som ble oppnådd, vises i følgende tabell:

<i>Treponema pallidum</i>					
Gen	Alignerte sekvenser: 607				
	Uten feil	Med feil	Sekvenser med bekreftet påvisning	Sekvenser uten påvisning	Sekvenser med ukjent påvisning
16S rRNA	99,84 %	0,16 %	99,84 %	0 %	0,16 %
Humant alfaherpesvirus 1					
Gen	Alignerte sekvenser: 513				
	Uten feil	Med feil	Sekvenser med bekreftet påvisning	Sekvenser uten påvisning	Sekvenser med ukjent påvisning
UL1	87,33 %	12,67 %	97,66 %	0 %	2,34 %
Humant alfaherpesvirus 2					
Gen	Alignerte sekvenser: 549				
	Uten feil	Med feil	Sekvenser med bekreftet påvisning	Sekvenser uten påvisning	Sekvenser med ukjent påvisning
US4	93,44 %	6,56 %	93,44 %	0 %	6,56 %

Tabell 26. Analyse av analytisk reaktivitet *in silico*. «Alignerte sekvenser» = antall sekvenser innrettet uten eller med uoverensstemmelser fra totalt antall analyserte sekvenser, «Sekvenser med bekreftet påvisning» = sekvenser uten uoverensstemmelser eller våtanalyserte sekvenser hvis påvisning er garantert, «Sekvenser uten påvisning» = sekvenser som tidligere ble *in silico*-analysert, og hvis eksperimentell påvisning ikke kan garanteres på grunn av tidligere negativ eksperimentell dokumentasjon, «Sekvenser med ukjent påvisning» = sekvenser tidligere som tidligere ble *in silico*-analysert, og hvis eksperimentell påvisning ikke kan garanteres på grunn av mangel på eksperimentell dokumentasjon.

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

Eksperimentell testing av analytisk reaktivitet

Den analytiske reaktiviteten til VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System for HSV-1 ble evaluert mot DNA fra humant herpesvirus 1, HF-stammen (ATCC-kode VR-260), humant herpesvirus 1, MacIntyre-stammen (ATCC-kode VR-539), humant herpesvirus 1, F-stammen (ATCC-kode VR-733) og 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1) (NIBSC 16/368), og viste positive resultater.

Den analytiske reaktiviteten til VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System for HSV-2 ble evaluert mot DNA fra humant herpesvirus 2, G-stammen (ATCC-kode VR-3393), humant herpesvirus 2, stamme ATCC-2011-2 (ATCC-kode VR-1779) og 1st WHO IS for Herpes simplex-virus type 2 (HSV-2) (NIBSC 17/122), og viste positive resultater.

Den analytiske reaktiviteten til VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System for *T. pallidum* ble evaluert mot DNA fra *Treponema pallidum*, Nichols-stamme (University of Washington) og *Treponema pallidum* DNA Control (Vircell MBC109), og viste positive resultater.

12.6. Metrologisk sporbarhet

Denne analysen er ikke utformet for måling.

13. Egenskaper for klinisk ytelse

Den kliniske ytelsen til VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ble testet med prøvempensler fra anogenitale og orale hudlesjoner, innsamlet av sykepleierpersonell ved bruk av Copan eSwab®. Ved innsamling ble den sterile prøvempenselen (FLOQSwab) plassert i det medfølgende hetteglasset som inneholder 1 ml Copan's Liquid Amies Elution Swab. Resultatene var som følger:

	Sted	Prøvetype	Arbeidsflyt	Mål
1	Certest Biotec S.L. (Zaragoza i Spania) i samarbeid med Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza i Spania) ved bruk av prøver fra Biobanco del Sistema de Salud de Aragón (BSSA)	Prøvempensler med anogenitale og orale hudlesjoner (Retrospektiv studie)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>
2	Certest Biotec S.L. (Zaragoza i Spania) ved bruk av prøver fra Cerba Xpert	Prøvempensler med anogenitale og orale hudlesjoner (Retrospektiv studie)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>

Tabell 27. Sted, prøvetype, arbeidsflyt og mål.

Sanne positive og negative verdier, falske positive og negative verdier, sensitivitet, spesifisitet, positive prediktive verdier (PPV), negative prediktive verdier (NPV) og sannsynlighetsratioer (LR) for VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ble beregnet. Resultatene og analysene av de ulike studiene ble sammenstilt som en enkelt referanseverdi fordi begge studiene brukte samme referansemetode, samme type prøver og de samme inklusjons-/eksklusjonskriteriene. Resultatene er vist i følgende tabell:

Sted	Komparatoranalyse	Mål	TP	TN	FP	FN	Sensitivitet	Spesifisitet	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)

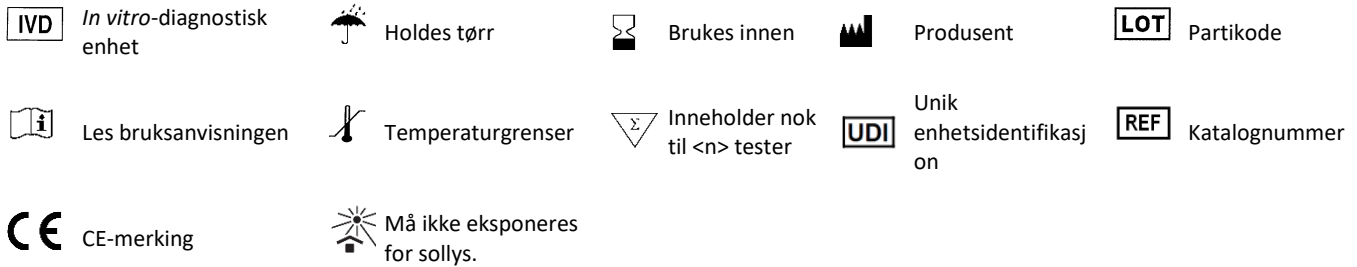
Tabell 28. Sanne positive (TP) og negative (TN) verdier, falske positive (FP) og falske negative (FN) verdier, sensitivitet, spesifisitet, positive prediktive verdier (PPV), negative prediktive verdier (NPV) og sannsynlighetsratioer (LR) for VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Konklusjonen er at resultatene viser høy grad av overensstemmelse ved påvisning av HSV-1, HSV-2 og *T. pallidum* med VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Litteratur

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

Symboler for IVD-komponenter og reagenser



Varemerker

BD MAX™ er et registrert varemerke tilhørende Becton, Dickinson and Company.

Rettigheter for endringer forbeholdt. Alle rettigheter forbeholdt. © Certest Biotec, S.L.

Alle andre varemerker omtalt i dette pakningsvedlegget tilhører sine respektive eiere.



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spania)

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

Informasjon om sponsor i Australia:

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

Informasjon om sponsor i New Zealand:

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

Endringskontroll		
Versjonsnr.	Endringer	Dato
00	Original versjon Denne versjonen er en oversettelse av originaldokumentet på engelsk: IUo-444222en0725.00.	27.07.2025

Tabell A 2. Tabell over endringskontroll.

Revidering: 00

VIASURE

by **certest**



Certest Biotec, S.L.

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



(+34) 976 520 354



viasure@certest.es



www.certest.es

certest

F-566 rev.03

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