

Real Time PCR Detection Kit

HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay
for BD MAX™ System
Instrucțiuni de utilizare

CE 2797 IVD

Aceste instrucțiuni de utilizare se aplică pentru următoarele referințe:

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

Tabelul A 1. Referință pentru produsul care urmează să fie utilizat cu sistemul BD MAX™.

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.

Consultați certest.es/viasure/labeling dacă limba dumneavoastră nu se află pe listă. Contactați viasure@certest.es dacă limba dumneavoastră nu se află pe site-ul web.

Notă: Utilizatorul trebuie să notifice producătorul și autoritatea competentă a statului membru în care este stabilit ca utilizator și/sau pacient cu privire la orice incident grav legat de produs.

Cuprins

1. Scopul propus.....	6
2. Rezumat și explicare	6
3. Principiile procedurii	7
4. Reactivi furnizați	8
5. Reactivi și echipamente care trebuie asigurate de către utilizator.....	8
6. Condiții de transport, depozitare și utilizare.....	9
7. Precauții pentru utilizatori	9
8. Procedura de testare	11
8.1. Recoltarea, transportul și depozitarea probei	11
8.2. Pregătirea probei și extragerea DNA	12
8.3. Protocol PCR.....	12
8.3.1. Crearea programului de testare PCR pentru VIASURE <i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System	12
8.3.2. Configurarea stativului BD MAX™	15
8.3.3. Configurarea instrumentului BD MAX™	16
8.3.4. Raport de rezultate BD MAX™	17
9. Interpretarea rezultatelor	17
10. Limitările testului	19
11. Controlul de calitate.....	21
12. Caracteristici de performanță analitică.....	21
12.1. Linearitate analitică.....	21
12.2. Sensibilitate analitică.....	22
12.2.1. Limita de blank (LoB).....	22
12.2.2. Limita de detecție (LoD).....	22
12.3. Intervalul de măsurare	23
12.4. Acuratețe.....	23
12.4.1. Fidelitatea	23
12.4.2. Precizie	24
12.4.3. Acuratețe	27

12.5.	Specificitate analitică și reactivitate	27
12.5.1.	Specificitate analitică	27
12.5.2.	Reactivitate analitică	32
12.6.	Trasabilitate metrologică	33
13.	Caracteristici de performanță clinică	34
	Bibliografie.....	35
	Simboluri pentru componentele și reactivii IVD	36
	Mărci comerciale	36

ROMÂNĂ

1. Scopul propus

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System este un test qPCR automatizat conceput pentru detectarea calitativă simultană de DNA de la virusul herpes simplex de tip 1 (HSV-1), virusul herpes simplex de tip 2 (HSV-2) și *Treponema pallidum* (sifilis) în specimene de tampon din leziune cutanată anogenitală și orală la pacienții cu suspiciune de infecție cu HSV-1, HSV-2 și *T. pallidum* de către furnizorul de asistență medicală (FAM) al acestora. Acest test este destinat pentru utilizare ca ajutor în diagnosticul infecțiilor cu microorganismul menționat mai sus, în combinație cu semnele și simptomele clinice ale pacientului și cu factorii de risc epidemiologic. Rezultatele pozitive indică prezența țintei de acid nucleic (NA), dar nu exclud prezența altor agenți patogeni nedetecțabili de test. Rezultatele negative nu exclud prezența țintelor NA și nu trebuie utilizate ca unică bază pentru deciziile de tratament sau de gestionare a pacientului. Testul utilizează BD MAX™ System pentru extragerea automată a DNA și efectuarea ulterioară a qPCR, utilizând reactivii furnizați în combinație cu reactivi universali și cu consumabile pentru sistemul BD MAX™. DNA este extras din probe, amplificat utilizând qPCR și detectat cu ajutorul unor primeri specifici și al unor sonde reporter cu pigment fluorescent pentru *HSV-1*, *HSV-2* și *T. pallidum*.

Produsul este destinat utilizării de către personalul de laborator clinic calificat, instruit în mod special și cu experiență în tehnicile de PCR în timp real și în procedurile de diagnostic in vitro (inclusiv instruirea pe instrumentul PCR în timp real (termociclator) și pe sistemul de extracție a acidului nucleic).

2. Rezumat și explicare

Virusurile herpes simplex (HSV) umane de tipurile 1 și 2 sunt două dintre cei mai prevalente virusuri umane la nivel mondial, care sunt frecvent asociate cu boli precum herpesul labial, herpesul genital, keratita stromală herpetică, meningita și encefalita (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). HSV afectează, în principal, pielea și mucoasele, provocând infecții persistente care constau în perioade de repaus (latență) și boală recurentă (reactivare) (Cole, 2020; Minaya et al., 2017). Transmiterea atât a HSV-1, cât și a HSV-2 are loc prin contact oral, în timp ce infecțiile cu HSV-2 apar ulterior, în mod normal prin transmitere sexuală, iar manifestările clinice ale acestor virusuri sunt extrem de variabile: asimptomatice, ușoare sau care pot pune viața în pericol (Cole, 2020; WHO, 2023; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). La majoritatea persoanelor imunocompetente, HSV provoacă o boală ușoară și autolimitată (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Cu toate acestea, infecția cu HSV este, de asemenea, asociată cu o morbiditate și mortalitate ridicată la anumite persoane, cum ar fi pacienții imunocompromiși care suferă de infecție recurentă cu HSV (Cole, 2020; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). S-a observat că o infecție cu un tip de HSV generează de obicei imunitate care previne reinfecția cu același serotip, dar nu și cu celălalt (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021).

Spirocheta *Treponema pallidum* este recunoscută ca agent cauzator al sifilisului veneric, al framboesiei, al sifilisului endemic și al pinta, toate acestea fiind infecții în mai multe stadii care pot fi deosebite doar pe baza criteriilor clinice, epidemiologice și geografice (Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023; Radolf et al., 2016; Tudor et al., 2022). *T. p. pertenue* este asociată cu framboesia, *T. carateum* cu pinta, iar *T. p. endemicum* cu sifilisul endemic, însă *T. pallidum* subspecia *pallidum* este singura subspecie legată de sifilisul veneric (Mercuri et al., 2022; Tudor et al., 2022).

Sifilisul progresează prin mai multe etape, fiecare cu semne și simptome distincte, cum ar fi șancrul în sifilisul primar și erupțiile cutanate sau ulcerale în sifilisul secundar (CDC, 2023; Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023). De fapt, din cauza varietății de manifestări clinice, sifilisul este poreclit „marele imitator” (Peeling et al., 2023; Tudor et al., 2022). Această boală a afectat diferite populații cu risc de-a lungul istoriei și, deși a fost aproape eradicată în 1998, incidența sa este în creștere începând cu anul în 2000 (Mercuri et al., 2022).

Este întotdeauna recomandată testarea pentru a diferenția HSV-1 de HSV-2, deoarece aceasta influențează atât prognosticul, cât și gestionarea cazului. CDC recomandă confirmarea diagnosticului clinic cu teste de virologie și serologie specifice tipului (Cole, 2020). O metodă de laborator fiabilă pentru diagnosticarea infecțiilor genitale acute cu HSV este detectarea de DNA de HSV-1 și HSV-2 prin reacția în lanț a polimerazei (PCR) (Cole, 2020). În ceea ce privește *T. pallidum*, pentru diagnosticul de laborator au fost utilizate detectarea directă și testarea serologică, deoarece acest agent patogen nu poate fi cultivat (Forrestel et al., 2020). Cu toate acestea, testele serologice nu sunt capabile să distingă sifilisul de alte infecții treponemice din cauza similitudinii genetice ridicate între treponemele patogene (Forrestel et al., 2020). Tehnicile de amplificare a acizilor nucleici, cum ar fi PCR, permit detectarea de DNA bacterian în probe clinice în timpul stadiilor incipiente ale bolii, oferind o strategie potențială de control al epidemiei de sifilis datorită sensibilității lor ridicate (Peeling et al., 2023).

3. Principiile procedurii

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System este conceput pentru detectarea calitativă simultană de DNA de la virusul herpes simplex de tip 1 (HSV-1), virusul herpes simplex de tip 2 (HSV-2) și *Treponema pallidum* (sifilis) în specimene de tampon din leziune cutanată anogenitală și orală. După izolarea de DNA, identificarea de HSV-1, HSV-2 și *T. pallidum* se efectuează prin amplificarea unei regiuni conservate a genei *glicoproteinei L UL1* a HSV-1, a genei *glicoproteinei G US4* a HSV-2 și a genei *16S rRNA* a *T. pallidum*, utilizând primeri specifici și sonde cu marcaj fluorescent.

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System se bazează pe activitatea de tip 5' exonuclează a DNA polimerazei. În cursul amplificării DNA, această enzimă clivează sonda legată la secvența de DNA complementar, separând molecula blocantă de substanța fluoroforă. Această reacție generează o creștere a semnalului fluorescent care este proporțională cu cantitatea de model țintă. Această fluorescență este măsurată de sistemul BD MAX™.

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System conține în fiecare tub toate componentele necesare pentru testul PCR în timp real (primeri/sonde specifice, dNTPs, tampon, polimerază) într-un¹ format stabilizat, precum și un control intern endogen (EIC) (gena *RNAse P* umană) pentru a urmări integritatea probei, pentru monitorizarea procesului de extracție și/sau pentru a elimina inhibarea activității polimerazei. Genele menajere umane sunt implicate în întreținerea de bază a celulei și, prin urmare, este de așteptat să fie prezente în toate celulele nucleate umane și să mențină un nivel de expresie relativ constant.

¹ Vă rugăm să rețineți că atât termenii „stabilizat”, cât și „liofilizat” sunt utilizați indistinct și ca sinonime pe parcursul întregului document.

Țintă	Canal	Genă
HSV-1	475/520	Gena glicoproteinei L UL1
HSV-2	530/565	Gena glicoproteinei G US4
<i>T. pallidum</i>	630/665	Genă 16S rRNA
Control intern endogen (EIC)	585/630	RNase P

Tabelul 1. Țintă, canal și gene.

4. Reactivi furnizați

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System include următoarele materiale și următorii reactivi detaliați/detaliați în Tabelul 2:

Reactiv/Material	Descriere	Intervalul de concentrație	Cod	Cantitate
HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> reaction tube	Lioprotectori și stabilizatori	± 6 g/100 ml*	Folie 1E	2 pungi cu câte 12 tuburi transparente
	Trifosfat de nucleotid (dNTPs)	± 1 mM*		
	Primeri și sonde	0,2-1 nmol/μl*		
	Enzime	10-100 U/reacție*		
Rehydration Buffer tube	Amestec de soluție salină	± 13 mM	Folie 11	1 pungă cu 24 tuburi transparente
	Tampon (TRIS, pH)	± 67 mM		

Tabelul 2. Reactivi și materiale furnizate în VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System cu Cat. N°. 444222.

* Pentru componenta în format stabilizat, intervalul de concentrație se înțelege după rehidratare.

5. Reactivi și echipamente care trebuie asigurate de către utilizator

Lista de mai jos include materiale care sunt necesare pentru utilizare, însă nu sunt incluse în VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

- Instrument PCR în timp real: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 or 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vortex.
- Micropipete (cu funcționare precisă între 2 și 1000 μl).
- Apă fără nucleaze.
- Vârfuri filtrante.
- Mănuși consumabile, fără pulbere.

Opțional:

- Materialele de control extern pot fi utilizate ca parte a procedurii de control al calității performanței testului. Materialul de control disponibil în comerț și/sau probele caracterizate anterior ca pozitive sau negative pot fi utilizate în calitate de control pozitiv extern (EPC) sau, respectiv, control negativ extern (ENC). Selectarea și validarea EPC și ENC trebuie să se facă în conformitate cu reglementările locale, de stat și/sau federale aplicabile și în conformitate cu procedurile standard de control al calității ale laboratorului. În plus, în cazul utilizării materialului de control disponibil în comerț, utilizatorul trebuie să respecte instrucțiunile de utilizare respective.

6. Condiții de transport, depozitare și utilizare

- Kiturile pot fi transportate și depozitate la 2-30 °C până la data de expirare, care este înscrisă pe etichetă.
- Evitați vibrațiile în timpul transportului pentru a preveni scurgerile de lichid.
- După deschiderea pungilor de aluminiu care conțin tuburile de reacție, produsul poate fi utilizat timp de până la 28 de zile la 2-30 °C. Păstrați flaconul ferit de lumină.

Tabelul de mai jos rezumă condițiile de transport, depozitare și utilizare a kitului general și a fiecărei componente:

Componentă	Condiții de transport	Condiții de depozitare	Condiții de utilizare
Întregul VIASURE HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System	2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe etichetă.	Înainte de utilizare: 2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe etichetă.	* <i>Consultați condițiile de utilizare a fiecărei componente.</i>
HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> reaction tube (folie 1E)		Înainte de utilizare: 2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe etichetă. După deschiderea pungii cu silicagel: 2-30°C timp de până la 28 de zile.	Temperatura camerei.
Rehydration Buffer tube		Înainte de utilizare: 2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe etichetă. După deschiderea pungii cu silicagel: 2-30°C timp de până la 28 de zile.	Temperatura camerei.

Tabelul 3. Rezumat al condițiilor de transport, depozitare și utilizare a VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System și a fiecărei componente.

7. Precauții pentru utilizatori

- Produsul este destinat utilizării de către personalul de laborator clinic calificat, instruit în mod special și cu experiență în tehnicile de PCR în timp real și în procedurile de diagnostic *in vitro*.
- Pentru utilizare în diagnostic *in vitro*.
- Instrucțiunile de utilizare a produsului VIASURE și manualul de utilizare al sistemului BD MAX™ trebuie citite cu atenție înainte de a utiliza VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Nu efectuați testul înainte de a înțelege informațiile privind procedurile, măsurile de siguranță și limitările descrise în acestea au fost înțelese.
- Nu utilizați reactivi și/sau materiale expirate.
- Nu utilizați kitul dacă eticheta care sigilează cutia exterioară este ruptă.
- Nu utilizați reactivii dacă cutia de protecție este deschisă sau ruptă la primire.
- Nu utilizați reactivii dacă pungile de protecție sunt deschise sau rupte la primire.
- Nu utilizați reactivii dacă desicantul nu este prezent sau este rupt în interiorul pungilor cu reactivi.
- Nu îndepărtați desicantul din pungile cu reactivi.
- Nu utilizați reactivii dacă folia a fost ruptă sau deteriorată.
- Nu amestecați reactivii din pungi și/sau kituri și/sau loturi diferite.
- Închideți prompt pungile de protecție care conțin reactivi, cu fermoarul, după fiecare utilizare pentru a proteja amestecul principal de lumina soarelui. Îndepărtați din pungi aerul în exces înainte de sigilare.
- Protejați reactivii împotriva umidității. Expunerea prelungită la umiditate poate afecta performanța produsului.
- Pentru a evita deteriorarea etichetei, nu utilizați produsul în apropierea solvenților.

- Un aspect al amestecului de reacție în format stabilizat, aflat în mod normal la fundul tubului, care este diferit de cel obișnuit (fără formă conică, neomogen, de dimensiune mai mare/mai mică și cu culoare alta decât alburie) nu afectează funcționalitatea testului.
- Asigurați-vă că tubul de reacție și tubul cu tampon de rehidratare sunt fixate în siguranță în timpul așezării suportului BD MAX™.
- În cazul în care sunt efectuate alte teste PCR în aceeași arie generală a laboratorului, trebuie să aveți grijă ca VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, orice reactivi suplimentari necesari pentru testare și BD MAX™ System să nu fie contaminate/contaminați. Evitați întotdeauna contaminarea microbiană și cu ribonuclează (RNază)/dezoxiribonuclează (DNază) a reactivilor. Se recomandă utilizarea vârfurilor de pipetare consumabile, lipsite de RNază/DNază, rezistente la aerosoli sau cu dislocuire pozitivă. Utilizați câte un vârf nou pentru fiecare probă. Trebuie să schimbați mănușile înainte de manipularea reactivilor și cartușelor (BD MAX™ PCR Cartridge).
- Pentru a evita contaminarea mediului cu ampliconi, nu rupeți cartușul BD MAX™ PCR Cartridge după utilizare. Elementele de sigilare ale BD MAX™ PCR Cartridge sunt concepute să prevină contaminarea.
- Puneți la punct un flux de lucru unidirecțional. Acesta trebuie să înceapă în zona de extracție și să continue în zona de amplificare și zona de detectare. Nu duceți probele, echipamentele și reactivii înapoi în zona în care a fost efectuată etapa precedentă.
- Respectați bunele practici de laborator. Purtați echipament de protecție, utilizați mănuși de unică folosință, ochelari de protecție și mască. Nu mâncați, nu beți, nu fumați și nu aplicați produse cosmetice în zona de lucru. Spălați-vă pe mâini după ce terminați testul.
- Probele trebuie tratate ca potențial infecțioase și/sau periculoase biologic, precum și toți reactivii și toate materialele care au fost expuse la probe și trebuie manipulate conform reglementărilor naționale privind siguranța. Luați măsurile de precauție necesare în cursul recoltării, depozitării, tratării și eliminării probelor.
- Probele și reactivii trebuie manipulate/manipulați într-un dulap de siguranță biologică. Utilizați echipament individual de protecție (EIP) în conformitate cu îndrumările actuale pentru manipularea probelor potențial infecțioase. Eliminați deșeurile în conformitate cu reglementările locale și de stat.
- Se recomandă decontaminarea cu regularitate a echipamentului utilizat, în special a micropipetelor și a suprafețelor de lucru.
- În conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 1907/2006 (REACH), testele VIASURE Assays for BD MAX™ System nu au nevoie de fișe tehnice de securitate (Safety Data Sheets) din cauza clasificării lor ca nepericuloase pentru sănătate și mediu, deoarece nu conțin substanțe și/sau amestecuri care îndeplinesc criteriile de clasificare a pericolelor disponibile în Regulamentul (CE) Nr. 1272/2008 (CLP) sau care sunt în concentrații mai mari decât valoarea stabilită în regulamentul menționat pentru declararea lor. O declarație care precizează că nu este necesară fișa tehnică de securitate (MSDS) poate fi solicitată de la Certest Biotec S.L.
- Asigurați-vă că definirea programului de testare PCR pe BD MAX™ System este efectuată urmând instrucțiunile din secțiunea „Protocol PCR” (parametri de extracție a probei, coduri de bare personalizate, setări PCR etc.).
- Consultați manualul de utilizare al sistemului BD MAX™ System pentru avertizări, precauții și proceduri suplimentare.

- Certificatul de analiză nu este inclus cu dispozitivul; totuși, acesta poate fi descărcat de pe site-ul web al Certest Biotec S.L. (www.certest.es) în caz de nevoie.

8. Procedura de testare

8.1. Recoltarea, transportul și depozitarea probei

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a fost testat pe specimene de tampon din tampon din leziune cutanată anogenitală și orală, recoltate utilizând Copan ESwab® (Copan's Liquid Amies Elution Swab) (denumite în continuare probe de leziuni cutanate naturale). Alte tipuri de probe trebuie validate de către utilizator.

Recoltarea, depozitarea și transportul specimenelor trebuie să se încadreze în condițiile validate de către utilizator. În general, probele clinice trebuie să fie recoltate și etichetate corespunzător în recipiente curate, cu sau fără mediu de transport (în funcție de tipul probei). După recoltare, speciemenle trebuie să fie plasate într-o pungă pentru materiale cu risc biologic și trebuie să fie transportate și procesate cât mai curând posibil, pentru a garanta calitatea testului. Speciemenle trebuie transportate la temperatura camerei (RT) sau la $2 \pm 2^\circ\text{C}$ timp de cel mult 48 de ore, cu respectarea reglementărilor naționale și locale pentru transportul materialelor patogene. În cazul transportului cu durată mare, recomandăm transportul la -20°C sau mai puțin². Speciemenle trimise pentru testare moleculară trebuie depozitate în condiții controlate, astfel încât acizii nucleici să nu se degradeze pe parcursul depozitării. Se recomandă să se utilizeze specimene proaspete pentru test, dar în cazul în care acest lucru nu este posibil sau în cazul unui studiu retrospectiv, probele trebuie depozitate cu prioritate la -70°C sau -80°C și, ca a doua opțiune, la -20°C ³.

Specimenele clinice trebuie colectate, transportate și depozitate în conformitate cu îndrumările de laborator corespunzătoare și/sau manualele de politici pentru laborator. Pentru exemple, consultați ghidul IDSA (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). Un ghid de utilizare a laboratorului de microbiologie pentru diagnosticarea bolilor infecțioase: actualizare 2018 de către Societatea Americană de Boli Infecțioase și Societatea Americană pentru Microbiologie. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94) sau 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).

Vă rugăm să rețineți: Condițiile de recoltare, transport și depozitare a specimenelor indicate mai sus sunt sugerate pe baza recomandărilor pentru probele tractului genitourinar destinate a fi utilizate pentru detectarea de acid nucleic așa cum apar în ghidurile de referință menționate anterior. Cu toate acestea, vă recomandăm să urmați îndrumările de laborator și/sau manualul de politici pentru laborator pentru transportul și conservarea corespunzătoare a probelor.

² IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). Un ghid de utilizare a laboratorului de microbiologie pentru diagnosticarea bolilor infecțioase: actualizare 2018 de către Societatea Americană de Boli Infecțioase și Societatea Americană pentru Microbiologie. *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. (English ed.)* 37, 127–134 (2019).

A fost efectuat un studiu intern de stabilitate a specimenelor cu VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System utilizând matrice de leziune cutanată naturală negativă îmbogățită cu virus herpes simplex de tip 1, tulpina KOS (ATCC® VR-1493 Ref. FR-310 (IRR)), virusul herpes simplex de tip 2, tulpina MS (Ref. 0810006CF, Zeptometrix) și *Treponema pallidum*, tulpina SS14 (Universitatea din Washington) la o concentrație de 3 x LoD. Stabilitatea a fost analizată cu ajutorul a trei teste diferite: stabilitatea primară imbricată a specimenului cu stabilitate în SBT la 2±2 °C și 25±2 °C, stabilitatea primară a specimenului la -20 ± 2 °C și ciclurile de îngheț (-80 °C) - dezgheț (25 °C). Rezultatele au arătat o bună performanță a probelor depozitate în toate condițiile testate. În concluzie, în ceea ce privește stabilitatea specimenului primar, probele de leziuni cutanate naturale sunt stabile după 48 de ore la 2 ± 2 °C și 25 ± 2 °C. În ceea ce privește stabilitatea în SBT, probele sunt stabile după 7 zile în SBT la 2 ± 2 °C și 25 ± 2 °C (după ce au fost păstrate până la 48 de ore la 2 ± 2 °C și 25 ± 2 °C înainte de adăugarea în SBT). În plus, probele sunt stabile după 6 luni de depozitare la -20 ± 2 °C și pentru cel puțin 5 cicluri de îngheț-dezgheț.

8.2. Pregătirea probei și extragerea DNA

Efectuați pregătirea probei conform recomandărilor date în instrucțiunile de utilizare ale kitului de extracție folosit, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipetați 500 µl de probă într-un tub BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube și închideți tubul cu un capac prevăzut cu sept. Asigurați amestecarea completă prin vortexarea probei la viteză mare, timp de 1 minut. Continuați cu BD MAX™ System Operation.

Notă: Asigurați-vă că vortexarea se efectuează cu câteva minute înainte de începerea rulării. Dacă se utilizează același tub BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube pentru testarea repetată, se recomandă să se agite manual tubul cu câteva minute înainte de începerea testului, pentru a asigura omogenizarea corespunzătoare a probei.

Rețineți că procedurile de pregătire a extracției specifice aplicației trebuie să fie dezvoltate și validate de către utilizator și că unele probe pot necesita preprocesare.

8.3. Protocol PCR

Notă: Pentru instrucțiuni detaliate, vă rugăm să consultați manualul de utilizare al sistemului BD MAX™.

8.3.1. Crearea programului de testare PCR pentru VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System

Notă: Dacă ați creat deja testul pentru VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, puteți sări punctul 8.3.1 și să mergeți direct la 8.3.2.

- 1) Deschideți ecranul „Run” (Rulare) al sistemului BD MAX™ System, selectați fila „Test Editor” (Editor test).
- 2) Faceți click pe butonul „Create” (Creare).

În fila „Basic Information” (Informații de bază):

- 3) În câmpul „Test Name” (Nume test), denumiți testul: de exemplu, VIASURE HHT.

Notă: Numele testului trebuie să fie unic și să aibă maximum douăzeci de caractere.

- 4) În meniul defilant „Extraction Type” (Tip extracție), selectați „ExK TNA-3”.
- 5) În meniul defilant „Master Mix Format” (Format amestec principal), alegeți „Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer” (Tip 5: MM liofilizat concentrat cu tampon de rehidratare).
- 6) În câmpul „Sample Extraction Parameters” (Parametri de extracție a probei), selectați „User Defined” (Definit de utilizator) și ajustați valorile următorilor parametri (tabelul 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Parametri de extracție a probei)	<i>Value (units)</i> (Valoare (unități))
Lysis Heat Time (Timp de încălzire pentru liză)	15 (min)
Lysis Temperature (Temperatură pentru liză)	55 (°C)
Sample Tip Height (Înălțimea vârfului pentru probă)	1600 (etape)
Sample Volume (Volum probă)	475 (μl)
Wash Volume (Volum spălare)	500 (μl)
Neutralization Volume (Volum neutralizare)	N/A
DNase Heat Time (Timp de încălzire pentru DNază)	N/A

Tabelul 4. Parametrii de extracție a probei efectuată cu BD MAX™ ExK™ TNA-3.

- 7) În „Ct Calculation” (Calcul Ct), selectați „Call Ct at Threshold Crossing” (Apelare Ct la depășirea pragului), selectat implicit.
- 8) Dacă rulați versiunea de software 5.00 sau mai recentă și aveți tuburi cu fixare cu folie cu cod de bare, în câmpul „Custom Barcodes” (Coduri de bare personalizate) selectați următoarea configurație:
- „Snap-In 2 Barcode” (Cod de bare poziția de fixare 2): 1E (referitoare la HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* reaction tube).
 - „Snap-In 3 Barcode” (Cod de bare poziția de fixare 3): 11 (referitor la Rehydration Buffer tube).

În fila „PCR Settings” (Setări PCR):

- 9) În câmpul „PCR settings” (Setări PCR) introduceți următorii parametri descriși în Tabelul 5: „Alias” (până la șapte caractere alfanumerice), „PCR Gain” (Câștig PCR), „Threshold” (Prag), „Ct Min” și „Ct Max”.

Channel (Canal)	Alias (Alias)	PCR Gain (Câștig PCR)	Threshold (Prag)	Ct Min (Ct Min)	Ct Max (Ct Max)
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

Tabelul 5. Setări PCR.

Notă: Se recomandă să setați valorile de prag minime listate mai sus pentru fiecare canal la un moment inițial, dar setările finale trebuie determinate de către utilizatorul final în cursul interpretării rezultatelor, pentru a exista siguranța că pragurile se situează în interiorul fazei exponențiale a curbei de fluorescență și deasupra oricărui semnal de fundal. Valoarea prag pentru diferite instrumente poate varia datorită intensităților diferite ale semnalului.

10) În câmpul „Color compensation” (Compensare culoare) introduceți următorii parametri (Tabelul 6).

		False Receiving Channel (Canal fals receptor)				
	Channel (Canal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Canal excitare)	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	-

Tabelul 6. Parametrii „Color compensation” (Compensare culoare).

În fila „Melt Settings” (Setări topire) nu este necesară nicio acțiune, nu este aplicabilă pentru acest produs.

În fila „Test Steps” (Etape test):

- 11) Introduceți numele etapei (până la douăzeci de caractere) și setați următorii parametri pentru a defini fiecare etapă a protocolului PCR: „Profile Type” (Tip profil), „Cycles” (Cicluri), „Time” (Timp) și „Temperature” (Temperatură) și selectați câmpul „Detect” (Detectare) pentru a defini etapa de detectare (Tabelul 7). Faceți clic pe butonul „Add” (Adăugare) pentru a adăuga o nouă etapă și repetați până când sunt definite toate etapele necesare.

Notă: Câmpul „Type” (Tip) trebuie să fie gol.

Step (Etapă)	Step name (Nume etapă)	Profile Type (Tip profil)	Cycles (Cicluri)	Time (s) (Timp (s))	Temperature (Temperatură)	Detect (Detectare)
Initial denaturation (Denaturare inițială)	IN-denaturation	Hold	1	120	98 °C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturare și aliniere/extensie (Colectare date))	Annealing/Extensie	2- Temperature	45	10	95 °C	-
				41	63 °C	✓

Tabelul 7. Protocol PCR.

În fila „Result Logic” (Logică rezultate):

- 12) În câmpul „Target” (Țintă) denumiți ținta: de exemplu, HSV1 (până la șapte caractere alfanumerice). Repetați etapele 12-15 pentru fiecare țintă (de exemplu, HSV2 sau TRE) urmând tabelele specifice pentru ținta care este definită.
- 13) Faceți clic pe caseta de selectare „Analyze” (Analiză) pentru a include lungimile de undă dorite (canale PCR) în analiza rezultatului țintă (Tabelele 8-10).

Wavelength (Lungime de undă)	Alias (Alias)	Type (Tip)	Analyze (Analiză)
475/520	HSV1	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tabelul 8. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta HSV1 (Herpes simplex virus 1).

Wavelength (Lungime de undă)	Alias (Alias)	Type (Tip)	Analyze (Analiză)
530/565	HSV2	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tabelul 9. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta HSV2 (virus herpes simplex de tip 2).

Wavelength (Lungime de undă)	Alias (Alias)	Type (Tip)	Analyze (Analiză)
585/630	EIC	PCR	✓
630/665	TRE	PCR	✓

Tabelul 10. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta TRE (*Treponema pallidum*).

14) Faceți click pe butonul „Edit Logic” (Editare logică).

15) În fereastra „Edit Logic” (Editare logică) sunt enumerate toate combinațiile de tipuri de rezultate. Pentru fiecare rând, în meniul defilant „Result” (Rezultat), selectați rezultatul care este apelat atunci când sunt îndeplinite condițiile din acel rând, urmând tabelele 11-13.

Result (Rezultat)	HSV1 (475/520)	EIC (585/630)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 11. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta HSV1 (virus herpes simplex de tip 1). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

Result (Rezultat)	HSV2 (530/565)	EIC (585/630)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 12. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta HSV2 (virus herpes simplex de tip 2). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

Result (Rezultat)	TRE (630/665)	EIC (585/630)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 13. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta TRE (*Treponema pallidum*). Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

Notă: Conform Ct Max definit anterior (tabelul 5), tipul de rezultat pentru canalele HSV1 (475/520), HSV2 (530/565), EIC (585/630) și TRE (630/665) este considerat „Valid” atunci când valoarea Ct obținută este ≤ 40 ; și „Invalid” atunci când valoarea Ct obținută este > 40 .

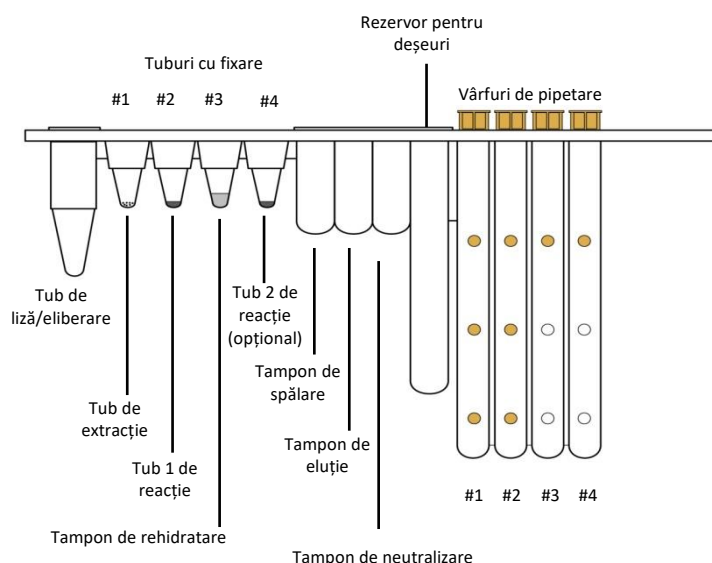
16) Faceți clic pe butonul „Save” (Salvare) pentru a salva testul.

8.3.2. Configurarea stativului BD MAX™

- 1) Pentru fiecare probă de testat, scoateți o bandetă de reactiv unitarizată din kitul BD MAX™ ExK™ TNA-3. Loviți cu blândețe fiecare bandetă de o suprafață dură pentru a vă asigura că toate lichidele se află la fundul tuburilor și încărcați pe stativele pentru probe ale sistemului BD MAX™ System.

- 2) Scoateți numărul necesar de BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (folie albă) din punga de protecție respectivă. Fixați tuburile de extracție (folie albă) în pozițiile corespunzătoare de pe bandeleta TNA (poziția de fixare 1, cod de culoare alb pe stativ. Consultați Figura 1). Îndepărtați excesul de aer și închideți punga cu sigiliul cu fermoar.
- 3) Determinați și separați numărul adecvat de tuburi *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* reaction tube (folie 1E) și fixați-le în pozițiile lor corespunzătoare de pe bandeletă (poziția de fixare 2, cod de culoare verde pe stativ. Consultați Figura 1).
- a. Îndepărtați excesul de aer și închideți pungile de aluminiu cu sigiliul cu fermoar.
- b. Pentru a face o rehidratare corectă, vă rugăm să vă asigurați că produsul liofilizat se află la fundul tubului și că nu este aderent la partea de sus a tubului sau la folia de sigilare. Loviți cu blândețe fiecare tub de o suprafață dură pentru a vă asigura că toate produsele se află la fundul tuburilor.
- 4) Îndepărtați numărul necesar de tuburi Rehydration Buffer tube (folie 11) și fixați-le în pozițiile corespunzătoare pe bandeletă (poziția de fixare 3, fără cod de culoare pe stativ. Consultați Figura 1).
- a. Îndepărtați excesul de aer și închideți punga cu sigiliul cu fermoar.
- b. Pentru a asigura un transfer corect, vă rugăm să vă asigurați că lichidul este la fundul tubului și că nu este aderent la partea de sus a tubului sau la folia de sigilare. Loviți cu blândețe fiecare tub de o suprafață dură pentru a vă asigura că întregul tampon se află la fundul tuburilor.

Figura 1. Bandeletă BD MAX™ TNA Reagent (TNA) de la kitul BD MAX™ ExK™ TNA-3.



8.3.3. Configurarea instrumentului BD MAX™

- 1) Selectați fila „Worklist” (Listă de lucru) din ecranul „Run” al software-ului sistemului BD MAX™, versiunea v4.50A sau mai recentă.
- 2) În meniul defilant „Test”, selectați testul dorit: de exemplu VIASURE HHT (dacă nu este deja creat, consultați Secțiunea 8.3.1).
- 3) În meniul defilant „Kit Lot Number” (Număr lot kit), selectați numărul de lot corespunzător pentru kit (se găsește pe cutia exterioră a kitului de extracție utilizat) (opțional).

Notă: Numerele de lot trebuie să fie definite în ecranul „Inventory” (Inventar) înainte de a putea fi selectate aici.

- 4) Introduceți numărul de identificare al Sample Buffer Tube în câmpul „Sample tube” (Tub probă), fie prin scanarea codului de bare, fie prin introducere manuală.
- 5) Completați câmpul „Patient ID” (ID pacient) și/sau „Accession” (Acces) și faceți clic pe tasta Tab sau Enter. Continuați până când toate codurile de bare pentru tuburile Sample Buffer Tube sunt introduse. Asigurați-vă că există o potrivire precisă între ID specimen/pacient și tuburile Sample Buffer Tube.
- 6) Puneți Sample Buffer Tube pregătit în stativul/stativele BD MAX™.
- 7) Încărcați stativul/stativele în BD MAX™ System (stativul A este poziționat pe partea stângă a BD MAX™ System iar stativul B pe partea dreaptă).
- 8) Puneți numărul necesar de BD MAX™ PCR Cartridge(s) în sistemul BD MAX™.
- 9) Închideți ușa sistemului BD MAX™.
- 10) Faceți click pe „Start” (Pornește) pentru a începe procedura.

8.3.4. Raport de rezultate BD MAX™

- 1) Din bara de meniu, dați click pe „Results” (Rezultate).
- 2) Fie faceți dublu click pe rularea dorită în listă, fie apăsați butonul „view” (vizualizare).
- 3) Butoanele „Print” (Imprimare) și „Export” din partea de jos a ecranului vor fi activate.

Pentru a imprima rezultatele:

1. Faceți click pe butonul „Print” (Imprimare).
2. În fereastra de previzualizare „Print” (Imprimare) a raportului de rulare, selectați: „Run Details” (Detalii rulare), „Test Details” (Detalii test) și „Plots” (Diagrame).
3. Faceți clic pe „Print” (Imprimare) pentru a imprima raportul sau faceți clic pe „Export” pentru a exporta un fișier PDF al raportului pe un USB.

Pentru a exporta rezultatele:

1. Faceți clic pe butonul „Export” pentru a transfera raportul (fișier PDF și CSV) pe un USB.
2. Când exportul este finalizat, pictograma de succes/eșec apare în fereastra „Results Export” (Export rezultate).

9. Interpretarea rezultatelor

Pentru o descriere detaliată a modului de analiză a datelor, consultați manualul de utilizare a sistemului BD MAX™.

Analiza datelor este efectuată de către software-ul BD MAX™, conform instrucțiunilor producătorului. Software-ul BD MAX™ raportează valorile Ct și curbele de amplificare pentru fiecare canal detector al fiecărei probe testate, în felul următor:

- valoarea Ct de 0 indică faptul că nu a existat o valoare Ct calculată de către software cu pragul specificat (consultați Tabelul 5).
- Curba de amplificare a probei care arată o valoare Ct „0” trebuie să fie verificată manual.

- O valoare Ct de -1 indică faptul că nu a avut loc niciun proces de amplificare, că nu a fost calculată nicio valoare Ct de către software sau că valoarea Ct calculată este sub pragul specificat sau peste Ct Max stabilit (valoarea limită).

- Orice altă valoare Ct trebuie interpretată în corelație cu curba de amplificare și în conformitate cu logica rezultatelor definită, urmând îndrumările de interpretare prezentate în Tabelul 14.

Verificați semnalul de control intern endogen (EIC) pentru a verifica corecta funcționare a amestecului de amplificare. În plus, verificați dacă există o raportare de defecțiune a sistemului BD MAX™ System.

Rezultatele trebuie să fie citite și analizate utilizând următorul tabel:

HSV-1 (nume țintă: HSV1)	HSV-2 (nume țintă: HSV2)	<i>T. pallidum</i> (nume țintă: TRE)	Interpretare pentru probele individuale ale pacientului
POS	POS	POS	DNA de HSV-1, HSV-2 și <i>Treponema pallidum</i> detectat.
POS	POS	NEG	DNA de HSV-1 și HSV-2 detectat. DNA de <i>Treponema pallidum</i> nedetectat.
POS	NEG	POS	DNA de HSV-1 și <i>Treponema pallidum</i> detectat. DNA de HSV-2 nedetectat.
NEG	POS	POS	DNA de HSV-2 și <i>Treponema pallidum</i> detectat. DNA de HSV-1 nedetectat.
POS	NEG	NEG	DNA de HSV-1 detectat. DNA de HSV-2 și <i>Treponema pallidum</i> nedetectat.
NEG	POS	NEG	DNA de HSV-2 detectat. DNA de HSV-1 și <i>Treponema pallidum</i> nedetectat.
NEG	NEG	POS	DNA de <i>Treponema pallidum</i> detectat. DNA de HSV-1 și HSV-2 nedetectat.
NEG	NEG	NEG	DNA de HSV-1, HSV-2 și <i>Treponema pallidum</i> nedetectat.
UNR	UNR	UNR	Rezultat Nerezolvat (UNR) obținut în prezența inhibitorilor din reacția PCR sau când intervine o problemă generală (neraportată printr-un cod de eroare) în legătură cu etapele de procesare a probei și/sau amplificare. ¹
IND	IND	IND	Rezultat test Nedeterminat (IND). Datorat defectării sistemului BD MAX™ System. Rezultat al testului afișat în caz de defecare a instrumentului, asociată unui cod de eroare. ²
INC	INC	INC	Rezultat test Incomplet (INC). Datorat defectării sistemului BD MAX™ System. Rezultat al testului afișat în caz de eșec la finalizarea rulării. ²

Tabelul 14. Interpretarea probei.

1 Controlul intern endogen (EIC) trebuie să prezinte un semnal de amplificare cu valoarea Ct ≤ 40 pentru a fi luat în considerare. Dacă se constată o absență a semnalului pentru EIC sau valoarea Ct > 40 rezultatul este considerat ca Nerezolvat (UNR) și este necesară repetarea testării. Se recomandă repetarea testului din același Sample Buffer Tube (tub de probă cu tampon) (SBT), din același specimen, pregătind un nou SBT sau dintr-un specimen nou (mai concentrat, dacă este posibil). De asemenea, se poate întâmpla ca rezultatul Nerezolvat (UNR) să se datoreze prezenței inhibitorilor în reacția PCR. În aceste cazuri, se recomandă diluarea acestor probe 1/10.

NOTĂ: probele de leziuni cutanate naturale pot fi păstrate fără transfer în SBT timp de până la 48 de ore dacă sunt depozitate la 2 ± 2 °C - 25 ± 2 °C (exprimate în ESwab® de la Copan). În cazul retestării din același SBT, se recomandă să se agite manual SBT pentru a asigura omogenizarea corespunzătoare a probei. Rețineți că probele de leziuni cutanate naturale pot fi păstrate în SBT timp de până la 7 zile la 2 ± 2 °C - 25 ± 2 °C.

2 Rezultatele nedeterminate (IND) sau incomplete (INC) pot fi obținute din cauza unei defecțiuni a sistemului și este necesară repetarea testării. Consultați manualul de utilizare al sistemului BD MAX™ System pentru interpretarea codurilor de avertizare și de eroare.

Notă: În cazul utilizării controalelor externe, acestea trebuie să conducă la următoarele rezultate așteptate: negative pentru ENC și pozitive pentru EPC (se așteaptă ca speciemenele pozitive cunoscute să fie pozitive numai pentru microorganismul(e) prezent(e) în probă). Un ENC care conduce la un rezultat pozitiv al testului indică un eveniment de contaminare sau o eroare de manipulare a specimenului. Un EPC care conduce la un rezultat negativ indică o problemă de manipulare/preparare a specimenului. Revedeți tehnica de manipulare/preparare a specimenului. În cazul în care apare o defecțiune a controlului extern, este necesară repetarea testării.

În cazul unui rezultat ambiguu obținut în mod continuu, se recomandă să se revadă instrucțiunile de utilizare, procesul de extracție folosit de către utilizator; să se verifice corecta performanță a fiecărei etape PCR și să se revizuiască parametrii; și să se verifice forma sigmoidă a curbei și intensitatea fluorescenței.

Rezultatele testului trebuie să fie evaluate de un profesionist din domeniul medical, ținând seama de antecedentele medicale, simptomele clinice și alte teste cu rol diagnostic.

10. Limitările testului

- Rezultatele testului trebuie să fie evaluate de un profesionist din domeniul medical, ținând seama de antecedentele medicale, simptomele clinice și alte teste cu rol diagnostic.
- Deși acest test poate fi utilizat cu alte tipuri de probe, acesta a fost validat doar cu speciemeni de tampon din leziune cutanată anogenitală și orală.
- Pentru o bună performanță a testului, produsul liofilizat trebuie să se afle la fundul tubului și să nu fie aderent la partea de sus a tubului sau la folia de sigilare. Loviți cu blândețe fiecare tub de o suprafață dură pentru a vă asigura că toate produsele se află la fundul tuburilor.
- Se poate observa o eventuală diafonie în canalele goale ale sistemului BD MAX™ System dacă nu există o țintă de detectat, așadar este necesar să se selecteze doar canalele în care acestea sunt amplificate atunci când se efectuează interpretarea rezultatelor. Vă rugăm să contactați viasuresupport@certest.es pentru orice întrebări.
- Calitatea testului depinde de calitatea probei; acidul nucleic trebuie să fie extras în mod corespunzător din probele clinice.
- Acest test este un test calitativ și nu furnizează valori cantitative, nici nu indică numărul de organisme prezente. Nu este posibil să se coreleze valorile Ct obținute prin PCR cu concentrația probei, deoarece acestea depind de termociclatorul utilizat și de rulare în sine.
- Pot fi detectate nivele extrem de joase ale țintei, aflate sub limita de detectare, însă rezultatele ar putea să nu fie reproductibile.
- Țineți cont de intervalul de măsurare preconizat al testului, deoarece probele cu concentrații mai mari sau mai mici decât acest interval pot da rezultate eronate.

- Există posibilitatea unor rezultate fals pozitive datorită contaminării încrucișate de la probele de HSV-1, HSV-2 și/sau *T. pallidum* conținând concentrații înalte de ADN țintă sau contaminării datorată produselor PCR provenite de la reacții efectuate anterior.
- Combinațiile specifice de primer și sondă pentru detectarea genei *glicoproteinei L UL1* a HSV-1, a genei *glicoproteinei G US4* a HSV-2 și a genei *16S rRNA* a *T. pallidum*, utilizate în VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, nu prezintă omologii combinate semnificative cu genomul uman, microflora umană sau alte microorganisme, care ar putea duce la rezultate fals pozitive predictibile.
- Rezultatele fals negative pot apărea datorită mai multor factori și combinațiilor dintre aceștia, incluzând:
 - Metode necorespunzătoare de recoltare, transport, depozitare și/sau manipulare a probelor.
 - Proceduri necorespunzătoare de procesare (inclusiv de extracție a DNA).
 - Degradarea DNA în cursul transportului/depozitării și/sau procesării probei.
 - Mutațiile sau polimorfismele în regiunile de legare ale primerului sau sondei pot afecta detectarea tulpinilor noi sau necunoscute de HSV-1, HSV-2 și/sau *T. pallidum*.
 - O încărcare microbiană a specimenului sub limita de detectare a testului.
 - Prezența inhibitorilor qPCR sau a altor tipuri de substanțe interferente. Nu a fost evaluat impactul vaccinurilor, a unor agenți de terapie antivirală, antibioticelor, chimioterapeuticelor, medicamentelor imunosupresoare sau antifungice utilizate pentru prevenirea infecției sau utilizate în cursul tratamentului acesteia.
 - Efectul substanțelor interferente a fost evaluat numai pentru cele indicate în secțiunea 12.5.1 (studiu al substanțelor interferente) din prezenta instrucțiune de utilizare. Consultați această secțiune pentru a verifica cele mai frecvente substanțe endogene și exogene care induc o interferență totală sau parțială a reacției qPCR. Alte substanțe care nu sunt indicate în această parte ar putea conduce la rezultate eronate.
 - Nerespectarea instrucțiunilor de utilizare și a procedurii de testare.
- Un rezultat pozitiv al testului nu indică neapărat prezența unor microorganisme viabile și nu înseamnă că aceste microorganisme sunt infecțioase sau sunt agenții cauzatori pentru simptome clinice. Totuși, un rezultat pozitiv indică prezența secvențelor țintă de HSV-1, HSV-2 și/sau *T. pallidum*.
- Rezultatele negative nu exclud prezența de DNA de HSV-1, HSV-2 și/sau *T. pallidum* în specimenul clinic și nu trebuie utilizate ca unică bază pentru deciziile de tratament sau de gestionare a pacientului. Tipurile optime de specimene și reperele de timp pentru nivelurile microbiene maxime în cursul infecțiilor cauzate de HSV-1, HSV-2 și/sau *T. pallidum* nu au fost determinate. Poate fi necesară recoltarea de specimene multiple (ca tipuri și repere de timp) de la același pacient, pentru a detecta agentul patogen.
- Dacă testele de diagnostic pentru alte boli cu transmitere sexuală (BTS) sunt negative și observațiile clinice, antecedentele pacientului și informațiile epidemiologice sugerează că este posibilă infecția cu HSV-1, HSV-2 și/sau *T. pallidum*, atunci trebuie luat în considerare un rezultat fals negativ și trebuie discutată testarea repetată a pacientului.
- Valorile de fluorescență pot varia din cauza mai multor factori, cum ar fi: echipamentul PCR (chiar fiind același model), sistemul de extracție, tipul de probă, tratamentul anterior al probei, etc... printre altele.

- Valorile predictiv pozitive și negative sunt extrem de dependente de prevalență în toate testele de diagnostic *in vitro*. Performanța VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System poate varia în funcție de prevalență și de populația testată.
- În cazul în care se obțin rezultate Nerezolvat, Nedeterminat sau Incomplet folosind VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System va fi necesară retestarea. Rezultatele Nerezolvat s-ar putea datora prezenței inhibitorilor în probă sau unei incorecte rehidratări a tubului cu amestec de reacție liofilizat. În cazul unei defecțiuni a instrumentului, vor fi obținute rezultatele Nedeterminat sau Incomplet.

11. Controlul de calitate

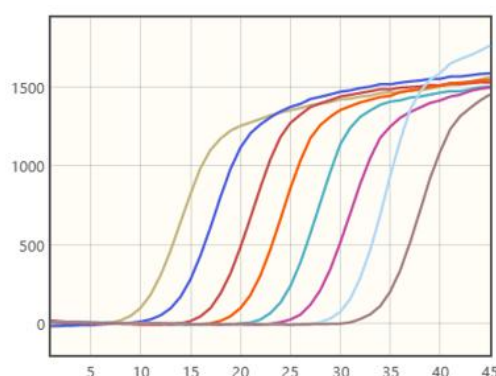
VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System conține în fiecare tub de reacție un control intern endogen (EIC), care confirmă aplicarea corectă a tehnicii. În plus, utilizarea controalelor externe (EPC și ENC) permite confirmarea performanței testului. Controalele externe nu sunt utilizate de BD MAX™ System în scopul interpretării rezultatelor, ci sunt considerate ca o probă. Controlul pozitiv extern (EPC) este destinat să monitorizeze o eventuală defecțiune a reactivilor de testare, în timp ce controlul negativ extern (ENC) este destinat să detecteze contaminarea mediului sau a reactivilor de către acizii nucleici țintă.

12. Caracteristici de performanță analitică

12.1. Linearitate analitică

Liniaritatea testului a fost determinată și confirmată prin testarea unei serii de diluții de zece ori a unei matrice artificiale de leziune cutanată⁴ (Artificial Matrix for Cutaneous Lesion, Biochemazone BZ394) conținând o concentrație cunoscută (cuprinsă între 2E+07 și 2E+01 copii/μl) de DNA specific și sintetic aparținând HSV-1, HSV-2 și *T. pallidum*. Mai jos este inclus un exemplu de diagramă de amplificare rezultat în urma unui test:

Figura 2. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale HSV-1 (2E+07 la 2E+01 copii/μl) pe BD MAX™ System (canal 475/520 (FAM)).



⁴ Din cauza disponibilității limitate a specimenelor de tampon din leziune cutanată anogenitală și orală, a fost efectuat un studiu de echivalență între matricea naturală și cea artificială pentru a confirma că matricea artificială poate fi utilizată în testele de validare. Prin urmare, atât matricile naturale, cât și cele artificiale au fost testate și confirmate ca fiind echivalente.

Figura 3. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale HSV-2 ($2E+07$ la $2E+01$ copii/ μ l) pe BD MAX™ System (canal 530/565 (HEX)).

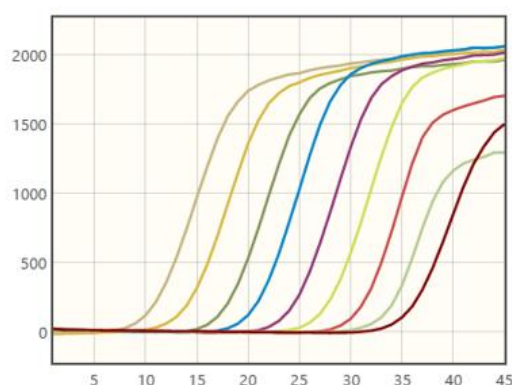
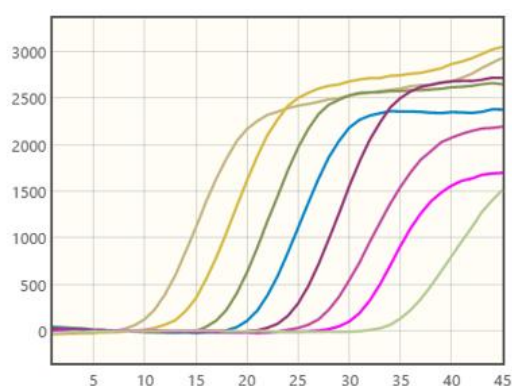


Figura 4. Modelul de rulare pentru seriile de diluție ale *T. pallidum* ($2E+07$ la $2E+01$ copii/ μ l) pe BD MAX™ System (canal 630/665 (Cy5)).



12.2. Sensibilitate analitică

Sensibilitatea analitică este denumită frecvent limita de detecție (LoD). În practică, parametrii LoD și limita de martor (LoB) sunt determinați ca parte a evaluării sensibilității analitice.

12.2.1. Limita de blank (LoB)

Pentru a determina „limita de blank” (LoB), a fost efectuat un test de control fără model, utilizând trei loturi de VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System și 24 de replici ale trei tipuri de probe: probe negative de leziuni cutanate naturale, matrice artificială de leziuni cutanate și apă fără RNază/DNază.

A fost verificată absența semnalului în canalele FAM, HEX și Cy5, precum și prezența semnalului pentru controlul intern endogen (EIC) în canalul ROX în cazul matricei negative (matrice de leziune cutanată naturală sau simulată). În concluzie, rezultatele obținute au confirmat faptul că produsul nu generează amplificări nespecifice în diferitele matrice testate.

12.2.2. Limita de detecție (LoD)

Limita de detecție (LoD) a VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a fost analizată cu trei loturi utilizând probe de leziuni cutanate naturale. Tulpinile de referință utilizate au fost virus herpes simplex de tip 1, tulpina KOS (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), virus herpes simplex de tip 2, tulpina MS (Ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) și

Treponema pallidum, tulpina SS14 (Universitatea din Washington). În concluzie, VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a prezentat un LoD de 2,52E+02 TCID50/ml pentru HSV-1, 6,30E+00 TCID50/ml pentru HSV-2 și 6,60E+03 celule/ml pentru *T. pallidum*, cu o rată pozitivă de $\geq 95\%$, în probe de leziuni cutanate naturale.

12.3. Intervalul de măsurare

Intervalul de măsurare al testului a fost determinat prin testarea unei serii de diluții de zece ori conținând o concentrație cunoscută de DNA specific aparținând HSV-1, HSV-2 și *T. pallidum*. Rezultatele au permis confirmarea detectării corecte a țintei de la 2E+07 la 2E+00 copii/μl pentru țintele HSV-1 și *T. pallidum* și de la 2E+07 la 2E-01 copii/μl pentru ținta HSV-2.

În concluzie, intervalul de măsurare al VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a fost determinat cu succes, asigurând rezultate fiabile, precise și reproductibile pe un spectru larg de încărcări virale/bacteriene, confirmându-i utilitatea în diferite scenarii de diagnostic clinic.

12.4. Acuratețe

12.4.1. Fidelitatea

Fidelitatea VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a fost evaluată prin testarea materialului de referință enumerat mai jos îmbogățit în matrice de leziune cutanată.

1. Fragmente de DNA sintetic

- Fragment de DNA sintetic pentru *glicoproteina L UL1* a HSV-1: HSV1.XPC, canalul FAM.
- Fragment de DNA sintetic pentru *glicoproteina G US4* a HSV-2: HSV2.XPC, canalul HEX.
- Fragment de DNA sintetic pentru gena *16S rRNA* a *T. pallidum*: TREXPC, canal Cy5.

Toate fragmentele de DNA sintetic au fost detectate corect pe canalul corespunzător.

2. Colecția americană de culturi tip (ATCC®)

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
VR-1493	Virus herpes simplex de tip 1	Human herpesvirus 1	Tulpina KOS	Detectat
VR-260	Virus herpes simplex de tip 1	Human Herpesvirus 1	Tulpina HF	Detectat
VR-539	Virus herpes simplex de tip 1	Human Herpesvirus 1	Tulpina MacIntyre	Detectat
VR-733	Virus herpes simplex de tip 1	Human Herpesvirus 1	Tulpina F	Detectat
VR-3393	Virus herpes simplex de tip 2	Human Herpesvirus 2	Tulpina G	Detectat
VR-1779	Virus herpes simplex de tip 2	Human Herpesvirus 2	Tulpina ATCC-2011-2	Detectat
BAA-2642SD	<i>Treponema pallidum</i>	Quantitative Synthetic <i>Treponema pallidum</i> DNA	N/A	Nedetectat

Tabelul 15. Material de referință de la Colecția americană de culturi tip (ATCC®).

Toate tulpinile de la ATCC au fost detectate corect pe canalul corespunzător, iar EIC a prezentat amplificare cu o valoare de $Ct \leq 40$, cu excepția de DNA sintetic cantitativ de *Treponema pallidum* (cod ATCC BAA-2642SD). Acest DNA sintetic include fragmente ale genei *polA*, ale genei *23S*, ale genei *16S*, *flaA*, *47kDa* și ale *bmp*, cu toate acestea, absența detectării la o

concentrație foarte mare (până la 4,70E+04 copii/μl) utilizând VIASURE Assay sugerează că regiunea țintă a acesteia în cadrul genei 16S nu este inclusă în DNA sintetic de la ATCC. Prin urmare, nu poate fi utilizat ca material de referință.

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

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
16/368	Virus herpes simplex de tip 1	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1)	N/A	Detectat
17/122	Virus herpes simplex de tip 2	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2)	N/A	Detectat

Tabelul 16. Material de referință de la Institutul Național pentru Standarde și Control Biologic (NIBSC).

Toate tulpinile de la NIBSC au fost detectate corect pe canalul corespunzător, iar EIC a prezentat amplificare cu o valoare $C_t \leq 40$.

4. Material de control

Referință externă	Origine	Microorganism	Nume produs	Varietate	Rezultat
0810006CF	ZeptoMetrix	Virus herpes simplex de tip 2	Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV-2)	Tulpina MS	Detectat
MBC109	Vircell S.L.	<i>Treponema pallidum</i>	AMPLIRUN® TREPONEMA PALLIDUM DNA CONTROL	N/A	Detectat
N/A	Universitatea din Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	Tulpina Nichols	Detectat
N/A	Universitatea din Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	Tulpina SS14	Detectat

Tabelul 17. Material de control pentru HSV-2 și *T. pallidum* de la Vircell S.L, ZeptoMetrix și Universitatea din Washington.

Toate tulpinile și materialul de referință au fost detectate corect pe canalul corespunzător, iar EIC a prezentat amplificare cu o valoare de $C_t \leq 40$.

12.4.2. Precizie

Pentru a determina precizia VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, au fost efectuate teste intra-test (repetabilitate), inter-teste, între loturi și între echipamente (reproductibilitate) cu matrice artificială de leziune cutanată îmbogățită cu tulpinile de referință virus herpes simplex de tip 1, tulpina KOS (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), virus herpes simplex de tip 2, tulpina MS (Ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) și *Treponema pallidum*, tulpina SS14 (Universitatea din Washington).

Intra-test

Intra-testul a fost testat prin analizarea a șase replici ale tuturor probelor în aceeași rulare, utilizând VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. În tabelul de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

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

Tabelul 18. Rezultatele intra-testului pentru VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, NEG = negativ, N/A = nu se aplică.

Inter-test

Inter-testul a fost testat prin analizarea a patru replici de diferite probe în trei zile diferite de către trei operatori diferiți, utilizând VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. În tabelul de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

Țintă	Canal	Tipul de probă	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
HSV-1	475/520 (FAM)	3xLoD	33,21	0,47	1,41
		5xLoD	31,85	0,78	2,43
		Control negativ	NEG	N/A	N/A
HSV-2	530/565 (HEX)	3xLoD	33,83	0,56	1,66
		5xLoD	32,68	0,48	1,48
		Control negativ	NEG	N/A	N/A
EIC	585/630 (ROX)	3xLoD	29,82	0,43	1,43
		5xLoD	29,94	0,40	1,33
		Control negativ	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
		Control negativ	NEG	N/A	N/A

Tabelul 19. Rezultatele inter-testului pentru VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, NEG = negativ, N/A = nu se aplică.

Între loturi

Valorile între loturi au fost determinate cu șase replici ale diferitelor probe utilizând trei loturi de VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. În tabelul de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

Țintă	Canal	Tipul de probă	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
HSV-1	475/520 (FAM)	3xLoD	33,26	0,46	1,38
		5xLoD	33,29	0,33	1,00
		Control negativ	NEG	N/A	N/A
HSV-2	530/565 (HEX)	3xLoD	30,98	0,86	2,78
		5xLoD	32,70	0,58	1,79
		Control negativ	NEG	N/A	N/A
EIC	585/630 (ROX)	3xLoD	30,04	0,57	1,89
		5xLoD	30,26	0,56	1,86
		Control negativ	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
		Control negativ	NEG	N/A	N/A

Tabelul 20. Rezultatele între loturi pentru VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, NEG = negativ, N/A = nu se aplică.

Între echipamente

Valorile între echipamente au fost determinate cu patru replici ale aceluiași probe utilizate pentru intra-test, inter-test și între loturi, utilizând VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System și trei sisteme BD MAX™ diferite. În tabelul de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

Țintă	Canal	Tipul de probă	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV%
HSV-1	475/520 (FAM)	3xLoD	33,71	0,52	1,54
		5xLoD	32,68	0,59	1,79
		Control negativ	NEG	N/A	N/A
HSV-2	530/565 (HEX)	3xLoD	33,56	0,80	2,39
		5xLoD	32,65	0,42	1,28
		Control negativ	NEG	N/A	N/A
EIC	585/630 (ROX)	3xLoD	29,51	0,77	2,59
		5xLoD	29,23	0,39	1,33
		Control negativ	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
		Control negativ	NEG	N/A	N/A

Tabelul 21. Rezultatele între echipamente pentru VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = ciclul de prag. ($\bar{x}$) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, NEG = negativ, N/A = nu se aplică.

În concluzie, studiul de precizie a confirmat performanțele fiabile și consistența VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

12.4.3. Acuratețe

Experimentul de acuratețe a fost efectuat prin analiza de panouri din programe externe de evaluare a calității (EQA). Au fost analizate probe care conțin HSV-1, HSV-2 sau *T. pallidum*, printre alte microorganisme non-țintă. Toate rezultatele testelor, prezentate în tabelul de mai jos, au fost comparate cu rapoartele finale furnizate de organizatorii programelor EQA.

Țintă	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)

Tabelul 22. Rezultate de acuratețe utilizând VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (ORA) = acord general, (TP) = adevărat pozitiv, (TN) = adevărat negativ, (FP) = fals pozitiv, (FN) = fals negativ, (PPA) = acord pozitiv procentual, (NPA) = acord negativ procentual.

În concluzie, VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System oferă o acuratețe înaltă în detectarea de DNA de HSV-1, HSV-2 și *T. pallidum*, cu valori NPA și PPA excelente pentru toate tulpinile testate.

12.5. Specificitate analitică și reactivitate

Specificitatea analitică și reactivitatea analitică au fost evaluate pentru VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System *in silico* și experimental, utilizând diferite materiale de pornire, cum ar fi tulpini de referință certificate, acizi RNA/DNA de referință certificați și material din programele EQA.

12.5.1. Specificitate analitică

Specificitatea analitică este capacitatea testului de a detecta ținta dorită. Există patru componente care trebuie luate în considerare pentru specificitatea analitică: reactivitatea încrucișată, coinfecția, interferența agenților microbieni și interferența substanțelor. Reactivitatea încrucișată poate apărea atunci când microorganisme înrudite genetic sunt prezente într-un specimen de la un pacient, în timp ce interferența microbiană poate apărea dacă acele microorganisme înrudite genetic alterează detectarea microorganismelor țintă atunci când sunt prezente. În mod similar, studiul de coinfecție își propune să evalueze dacă microorganismele țintă la diferite concentrații din aceeași probă ar putea altera detectarea între ele. În cele din urmă, interferența substanțelor poate apărea dacă prezența unor substanțe specifice potențial prezente în matricea probei afectează performanța qPCR.

Reactivitate încrucișată: analiză *in silico*

Reactivitatea încrucișată a fost evaluată prin utilizarea secvențelor de referință ale patogenilor din NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) și cu instrumente de alinierea precum BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) și un software intern de analiză bioinformatică.

Rezultatele afișate prezintă doar secvențele cu un procent de omologie mai mare de 80 %. Se consideră puțin probabil ca secvențele aliniate cu un procent de aliniere mai mic de 80 % de omologie să fie detectate.

Treponema pallidum

Toate secvențele analizate au fost sub 80 % de omologie cu setul de primeri și sonde pentru *T. pallidum*.

Analiza *in silico* a reactivității încrucișate a arătat o omologie de 100 % cu *Treponema paraluischanciculi* (Taxid ID: 53435 și 545766). Cu toate acestea, conform unei căutări în NCBI, aceste secvențe au fost găsite ca fiind heterotipice sau sinonime din punct de vedere taxonomic și, de asemenea, corespund *Treponema pallidum*.

Prin urmare, niciuna dintre secvențele analizate, inclusiv cele care prezintă o omologie mai mare de 80 %, nu poate afecta detectarea corectă a *Treponema pallidum*.

Alphaherpesvirus uman 1

Toate secvențele analizate au fost sub 80 % de omologie cu setul de primeri și sonde pentru HSV-1.

Analiza *in silico* a reactivității încrucișate a arătat o omologie de 98,33 % cu tulpina 105640 a virusului herpes alfa-1 al cimpanzeului (Taxid ID: 332937). Gazda acestei tulpini de alphaherpesvirus este cimpanzeul (*Pan troglodytes*). Herpesvirusurile sunt extrem de specifice gazdei și împărtășesc o evoluție sincronă îndelungată cu gazdele lor. Acest virus nu a fost identificat la om și nu este considerat virus zoonotic în prezent, așadar, nu interferează în detectarea HSV-1.

Prin urmare, niciuna dintre secvențele analizate, inclusiv cele care prezintă o omologie mai mare de 80 %, nu poate afecta detectarea corectă a HSV-1.

Alphaherpesvirus uman 2

Toate secvențele analizate au fost sub 80 % de omologie cu setul de primeri și sonde pentru HSV-2.

În concluzie, modelele de ținte HSV-1, HSV-2 și *T. pallidum* ale VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System nu ar trebui să provoace rezultate fals pozitive în detectarea de *Treponema pallidum*, alphaherpesvirus uman 1 și alphaherpesvirus uman 2 atunci când sunt prezente alte organisme.

Specificității analitice: testare experimentală**Reactivitate încrucișată, testare experimentală**

Reactivitatea încrucișată a VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a fost confirmată prin testarea unui panel de diferite microorganisme asociate cu simptomele infecțiilor cu transmitere sexuală sau microorganisme relevante din punct de vedere ambiental și fitogenetic. Atunci când a fost posibil și au fost disponibile date privind concentrația, microorganismele interferente au fost evaluate la niveluri relevante din punct de vedere medical (de obicei 1E+05 – 1E+06 UFC (unități formatoare de colonie)/ml pentru bacterii/ciuperci și 1E+04 – 1E+05 UFP (unități formatoare de placă)/ml pentru viruși). Nu a fost detectată nicio reactivitate încrucișată între oricare dintre următoarele microorganisme testate, cu excepția microorganismelor țintă.

Testarea reactivității încrucișate					
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	-	<i>Haemophilus influenzae</i> , tulpina L-378	-	<i>Listeria monocytogenes</i> , serotip 4b	-
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius 1863 CECT 2071	-	Hepatitis A HM175/18f	-	Virusul variolei maimuței	-
<i>Atopobium vaginae</i>	-	Virusul herpes simplex de tip 1 1st WHO IS for HSV-1	+	<i>Mycoplasma genitalium</i> , tulpina M30	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	Virusul herpes simplex de tip 2 1st WHO IS for HSV-2	+	<i>Mycoplasma hominis</i> , tulpina LBD-4	-
<i>Candida albicans</i>	-	Virusul herpes 2, tulpina MS	+	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , tulpina NCTC 8375 [B 5025]	-
<i>Candida glabrata</i>	-	Virusul herpesului uman 1, tulpina HF	+	<i>Neisseria meningitidis</i> , tulpina M2091	-
<i>Candida krusei</i> Issatchenkia orientalis Kudryavtsev 1960 CECT 1433	-	Virusul herpesului uman 1, tulpina F	+	<i>Proteus mirabilis</i> NCDC 2059-70	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	Virusul herpesului uman 1, tulpina KOS (ATCC-VR-1493)	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> tulpina RH 815	-
<i>Candida tropicalis</i> (Castellani) Berkhout 1923 CECT 1005	-	Virusul herpesului uman 1, tulpina MacIntyre	+	<i>Serratia marcescens</i> , subsp. marcescens	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> , serotip E	-	Virusul herpesului uman 2, tulpina ATCC-2011-2	+	<i>Staphylococcus aureus</i> , subsp. Aureus, tulpina Seattle 1945	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	Virusul herpesului uman 2, tulpina G	+	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , tulpina 810-2	-
<i>Enterobacter cloacae</i> , subsp. cloacae	-	Virusul papilomului uman 16	-	DNA Control <i>Treponema pallidum</i> , Vircell	+
<i>Enterococcus faecalis</i> , tulpina tip CECT 8120	-	Virusul papilomului uman 18	-	<i>Treponema pallidum</i> , tulpina Nichols	+
<i>Enterococcus faecium</i> vanA, tulpina CECT 5253	-	<i>Klebsiella oxytoca</i> , tulpina MIT 10-5243	-	<i>Treponema pallidum</i> , tulpina SS14	+
Epstein-Barr Virus 1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , tulpina UHKPC57	-	<i>Trichomonas vaginalis</i> , QCMD TV18S-01	-
<i>Escherichia coli</i> , tulpina tip	-	<i>Listeria innocua</i>	-	<i>Ureaplasma urealyticum</i> , tulpina T 960 (CX8) [960, CIP 103755, NCTC 10177]	-
<i>Gardnerella vaginalis</i> 594 [NCTC 10287]	-	<i>Listeria ivanovii</i> , subsp. londoniensis	-	Virusul varicelei zoster, tulpina Ellen	-
<i>Haemophilus ducreyi</i> , clasa I	-	<i>Listeria monocytogenes</i> , serotip 1/2	-		

Tabloul 23. Microorganisme patogene de referință incluse în testul de reactivitate încrucișată. Rezultatul +/- se referă la rezultatul pozitiv sau negativ obținut în diferitele canale, în funcție de ținta detectată. În cazul în care un microorganism testat este una dintre țintele detectate de dispozitiv, se obține un rezultat pozitiv în canalul corespunzător, dar se obțin rezultate negative în celelalte canale.

În concluzie, rezultatele testelor de reactivitate încrucișată indică o specificitate înaltă a VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, reducând astfel riscul de rezultate fals pozitive. Deoarece nu au fost observate amplificări nespecifice cu alte microorganisme înrudite, aceasta sugerează că dispozitivul este capabil să distingă cu acuratețe țintele.

Studiu de coinfectie

A fost efectuat un studiu de coinfectie folosind virusul herpes simplex de tip 1, tulpina KOS (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), virusul herpes simplex de tip 2, tulpina MS (Ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) și *Treponema pallidum*, tulpina SS14 (Universitatea din Washington) la diferite concentrații, pentru a confirma că prezența oricăruia dintre ele, independent de concentrație, nu alterează detectarea între ele. Au fost analizate trei probe de matrice de leziune cutanată naturală negative, îmbogățite cu material de referință, o țintă la concentrație scăzută (3 x LoD) și celelalte ținte la o concentrație foarte mare, de obicei 1E+04 – 1E+05 unități/ml, dacă este posibil.

Rezultatele confirmă faptul că detectarea microorganismelor țintă nu este alterată atunci când sunt analizate cu VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System în coinfecție la diferite concentrații.

Studiu al agenților microbieni interferenți

A fost efectuat un studiu de interferență microbiană pentru a analiza potențialii agenți microbieni interferenți pentru VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. A fost testat un panel de diferite microorganisme relevante din punct de vedere clinic, ambiental și fitogenetic în prezența țăintelor HSV-1, HSV-2 și *T. pallidum* utilizând matrice de leziune cutanată naturală negativă îmbogățită cu virusul herpes simplex de tip 1, tulpina KOS (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), virusul herpes simplex de tip 2, tulpina MS (Ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) și *Treponema pallidum*, tulpina SS14 (Universitatea din Washington). Atunci când a fost posibil și au fost disponibile date privind concentrația, virusul, bacteria și/sau fungii interferenți au fost evaluate la niveluri relevante din punct de vedere medical (de obicei 1E+05 – 1E+06 UFC/ml pentru bacterii/fungi și 1E+04 – 1E+05 UFP/ml pentru viruși).

Controlul pozitiv al matricei (Positive Matrix Control, PMC) și controlul negativ al matricei (Negative Matrix Control, NMC) sunt incluse ca controale ale testului. PMC corespunde matricei negative îmbogățită cu tulpini țintă specifice fără niciun agent microbial interferent, în timp ce NMC corespunde matricei negative fără niciun agent microbial interferent.

Nume microorganism	Concentrația testată	Rezultat
PMC	N/A	N.I
NMC	N/A	N.I
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Nu este disponibilă	N.I
<i>Atopobium vaginae</i>	4,52E+03 UFC/μl	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+03 UFC/μl	N.I
<i>Candida glabrata</i>	2,46E+03 UFC/μl	N.I
<i>Candida parapsilosis</i>	Nu este disponibilă	N.I
<i>Candida tropicalis</i>	3,04E+04 cop/ml	N.I
<i>Chlamydia trachomatis</i> , serotip E	3,20E+06 UI/ml	N.I
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,28E+03 UFC/μl	N.I
1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	5,00E+04 UI/ml	N.I
<i>Gardnerella vaginalis</i> 594 [NCTC 10287]	4,40E+05 UFC/ml	N.I
<i>Haemophilus ducreyi</i> , clasa I	1,40E+02 cop/ml	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,20E+03 UFC/μl	N.I
Hepatitis A	2,80E+03 TCID50/μl	N.I
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Nu este disponibilă	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Nu este disponibilă	N.I
<i>Listeria innocua</i>	Nu este disponibilă	N.I
<i>Listeria ivanovii</i> , subsp. londoniensis	Nu este disponibilă	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 4031)	2,90E+03 UFC/μl	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 935)	2,70E+03 UFC/μl	N.I
<i>Mycoplasma hominis</i>	4,40E+03 UFC/μl	N.I
<i>Mycoplasma genitalium</i>	3,80E+03 UFC/μl	N.I

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6,20E+03 UFC/μl	N.I
<i>Neisseria meningitidis</i>	5,70E+04 UFC/μl	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+04 UFC/μl	N.I
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,60E+04 UFC/μl	N.I
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9,20E+03 UFC/μl	N.I
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2,00E+04 UFC/μl	N.I
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	8,10E+05 UFC/ml	N.I
<i>Bacteroides fragilis</i>	3,40E+02 cop/ml	N.I
<i>Enterococcus faecalis</i> , tulpina tip	5,00E+05 UFC/ml	N.I
<i>Enterococcus faecium</i> vanA	3,50E+05 UFC/ml	N.I
Virusul papilomului uman 16	1,00E+03 UFC/μl	N.I
Virusul papilomului uman 18	1,00E+03 UFC/μl	N.I
<i>Serratia marcescens</i>	2,30E+05 UFC/ml	N.I
Virusul varicelei zoster	7,26E+04 UFC/ml	N.I
<i>Citrobacter freundii</i> , tulpina tip	6,20E+02 UFC/μl	N.I
<i>Escherichia coli</i> , tulpina tip	5,20E+02 UFC/μl	N.I
<i>Proteus mirabilis</i>	2,55E+01 UFC/μl	N.I
Virusul variolei maimuței	1,50E+03 cop/ml	N.I

Tabelul 24. Testul agenților microbieni interferenți. N.I. = fără interferențe, (PMC) = control pozitiv al matricei, (NMC) = control negativ al matricei, (TCID50): doza infecțioasă în cultură de țesut 50 %, (IU): unități internaționale, (UFC): unități formatoare de colonie, (cop): copii, (UI): unități de infecție.

În concluzie, nu a fost observată nicio interferență în detectarea acidului nucleic țintă cu niciunul dintre microorganismele testate.

Studiul substanțelor interferente

A fost efectuat un studiu al substanțelor de interferență pentru a testa efectul de interferență potențial al substanțelor endogene și exogene asupra VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Un număr de 22 de substanțe potențial interferente au fost adăugate la matricea negativă de leziune cutanată naturală îmbogățită cu tulpinile de referință: virusul herpes simplex de tip 1, tulpina KOS (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), virusul herpes simplex de tip 2, tulpina MS (Ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) și *Treponema pallidum*, tulpina SS14 (Universitatea din Washington); și evaluate cu șase replici.

Controlul pozitiv al matricei (Positive Matrix Control, PMC) și controlul negativ al matricei (Negative Matrix Control, NMC) sunt incluse ca controale ale testului. PMC corespunde matricei negative îmbogățită cu tulpini țintă specifice fără substanță interferentă, în timp ce NMC corespunde matricei negative fără substanță interferentă și fără microorganisme/material de referință adăugate. S-au obținut următoarele rezultate:

Denumire substanță	Concentrația testată	Rezultat
PMC	N/A	N.I.
NMC	N/A	N.I.
Aciclovir	6,60E-02 mg/ml	N.I.
Albumină	1,00E-01 mg/ml	N.I.

Sânge integral	1,00E+00 % (v/v)	N.I.
Leucocite/ monocite	1,00E+06 cell/ml	N.I.
Mucină	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Clamiox (hidrocortizon)	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Neosayomol (difenhidramină)	3,87E-02 mg/ml	N.I.
Letibalm (balsam de buze)	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Cazeină	7,00E+00 mg/ml	N.I.
Hemoal (benzocaină)	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Durex Frescor	5,00E+01 µl/ml	N.I.
Ulei intim SOIVRE	5,00E+01 µl/ml	I
	1,25E+01 µl/ml	N.I.
Liade	7,20E+00 mg/ml	N.I.
Urina feminină	1,00E+01 % (v/v)	N.I.
Urina masculină	1,00E+01 % (v/v)	N.I.
Fecale	2,20E-01 % (v/v)	N.I.
Lichid seminal	5,00E+00 % (v/v)	N.I.
Halibut	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Cremă Vagisil	7,50E-01 mg/ml	N.I.
Amidon de porumb	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Talquistina	2,64E+00 % (v/v)	I
	6,60E-01 % (v/v)	I
	3,30E-01 % (v/v)	I
	1,70E-01 % (v/v)	N.I.
Tioconazol	2,50E+00 mg/ml	N.I.

Tabelul 25. Substanțe cu potențial de interferență. N.I: Nicio interferență raportabilă/ I: Interferență.

Diferite substanțe potențial interferente, atât endogene, cât și exogene, au fost testate pe VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. S-a observat interferență la testarea uleiului intim SOIVRE la 50 µl/ml și Talquistina la 2,64 % (v/v). Diluțiile au fost efectuate până la atingerea concentrației la care aceste efecte de interferență nu au mai fost observate: 12,5 µl/ml pentru uleiul intim SOIVRE și 0,17 % (v/v) pentru Talquistina. Rezultatele obținute conduc la concluzia că, la concentrațiile finale testate, nu se observă nicio interferență a vreunei substanțe evaluate.

12.5.2. Reactivitate analitică

Reactivitatea analitică poate fi definită ca procentul de tulpini microbiene țintă sau de probe de DNA/RNA care dau rezultatul pozitiv corect. Reactivitatea analitică a fost studiată *in silico* și prin testări experimentale.

Reactivitate analitică: analiză *in silico*

Reactivitatea analitică a VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a fost evaluată utilizând baze de date de secvențe de nucleotide disponibile public, precum NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), și un software intern de analiză bioinformatică, pentru a demonstra că genele

țintă pot fi detectate corect de către dispozitivul studiat. Analiza *in silico* a designului primerilor și al sondei a fost efectuată prin aliniere față de un total de 4 941 de secvențe analizate (secvențe descărcate din baza de date cu duplicate eliminate) pentru *T. pallidum*, 9 779 pentru HSV-1 și 8 689 pentru HSV-2. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul de mai jos:

<i>Treponema pallidum</i>					
Genă	Secvențe aliniate: 607				
	Fără nepotrivire	Cu nepotrivire	Secvențe cu detectare confirmată	Secvențe fără detectare	Secvențe cu detectare necunoscută
16S rRNA	99,84 %	0,16 %	99,84 %	0 %	0,16 %
Alphaherpesvirus uman 1					
Genă	Secvențe aliniate: 513				
	Fără nepotrivire	Cu nepotrivire	Secvențe cu detectare confirmată	Secvențe fără detectare	Secvențe cu detectare necunoscută
UL1	87,33 %	12,67 %	97,66 %	0 %	2,34 %
Alphaherpesvirus uman 2					
Genă	Secvențe aliniate: 549				
	Fără nepotrivire	Cu nepotrivire	Secvențe cu detectare confirmată	Secvențe fără detectare	Secvențe cu detectare necunoscută
US4	93,44 %	6,56 %	93,44 %	0 %	6,56 %

Tabelul 26. Test de reactivitate analitică *in silico*. „Secvențe aliniate” = numărul de secvențe aliniate fără sau cu neconcordanțe din totalul secvențelor analizate, „Secvențe cu detectare confirmată” = secvențe fără neconcordanțe sau analizate prin care detectarea este garantată, „Secvențe fără detectare” = secvențe analizate anterior *in silico* a căror detectare experimentală nu poate fi garantată din cauza dovezilor experimentale negative anterioare, „Secvențe cu detectare necunoscută” = secvențe analizate anterior *in silico* a căror detectare experimentală nu poate fi garantată din lipsa dovezilor experimentale.

În concluzie, analiza de inclusivitate a arătat o detectare corectă a genelor 16S rRNA, UL1 și US4 ale *T. pallidum*, HSV-1 și HSV-2, respectiv, cu VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Reactivitate analitică: testare experimentală

Reactivitatea analitică a VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System pentru HSV-1 a fost evaluată în raport cu DNA de la virusul herpes simplex de tip 1, tulpina HF (cod ATCC VR-260), virusul herpes simplex de tip 1, tulpina MacIntyre (cod ATCC VR-539), virusul herpes simplex de tip 1, tulpina F (cod ATCC VR-733) și 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1) (NIBSC 16/368), prezentând rezultate pozitive.

Reactivitatea analitică a VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System pentru HSV-2 a fost evaluată în raport cu DNA de la virusul herpes simplex de tip 2, tulpina G (cod ATCC VR-3393), virusul herpes simplex de tip 2, tulpina ATCC-2011-2 (cod ATCC VR-1779) și 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2) (NIBSC 17/122), prezentând rezultate pozitive.

Reactivitatea analitică a VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System pentru *T. pallidum* a fost evaluată în raport cu DNA de la *Treponema pallidum*, tulpina Nichols (Universitatea din Washington) și *Treponema pallidum* DNA Control (Viracell MBC109), prezentând rezultate pozitive.

12.6. Trasabilitate metrologică

Acest test nu este conceput pentru măsurători.

13. Caracteristici de performanță clinică

Performanța clinică a VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a fost testată utilizând specimene de tampon din leziune cutanată anogenitală și orală, colectate de personalul medical utilizând Copan eSwab®. Pentru recoltare, tamponul steril (FLOQSwab) a fost plasat în flaconul furnizat conținând 1 ml de Copan's Liquid Amies Elution Swab. Rezultatele au fost următoarele:

	Centru	Tipul de probă	Flux de lucru	Țintă
1	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Spania) în colaborare cu Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, Spania) utilizând probe din Biobanco del Sistema de Salud de Aragón (BSSA)	Tampon din leziune cutanată anogenitală și orală (Studiu retrospectiv)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>
2	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Spania) utilizând probe de la Cerba Xpert	Tampon din leziune cutanată anogenitală și orală (Studiu retrospectiv)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>

Tabelul 27. Centrul, tipul de probă, fluxul de lucru și țintă.

Au fost calculate valorile adevărat pozitive și negative, valorile fals pozitive și negative, valorile de sensibilitate și specificitate, valorile predictiv pozitive (PPV), valorile predictiv negative (NPV) și raportul de probabilitate (LR) pentru VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Rezultatele și analizele diferitelor studii au fost compilate ca o singură valoare de referință datorită faptului că ambele studii au utilizat aceeași metodă de referință, același tip de probe și aceleași criterii de includere/excludere. Rezultatele sunt prezentate în tabelul de mai jos:

Centru	Test comparativ	Țintă	TP	TN	FP	FN	Sensibilitate	Specificitate	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)

Tabelul 28. Valorile adevărat pozitive (TP) și adevărat negative (TN), valorile fals pozitive (FP) și fals negative (FN), sensibilitatea, specificitatea, valorile predictiv pozitive (PPV), valorile predictiv negative (NPV) și raportul de probabilitate (LR) pentru VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

În concluzie, rezultatele arată un grad înalt de acord pentru detectarea de HSV-1, HSV-2 și *T. pallidum* utilizând VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Bibliografie

- 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>

Simboluri pentru componentele și reactivii IVD

 Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i>	 A se păstra la loc uscat	 Data de expirare	 Producător	 Cod lot
 Consultați instrucțiunile de utilizare	 Limite de temperatură	 Conținut suficient pentru <n> teste	 Identificator unic al dispozitivului	 Număr de catalog
 Marcaj CE	 Păstrați departe de lumina soarelui			

Mărci comerciale

BD MAX™ este o marcă comercială înregistrată a Becton, Dickinson and Company.

Drepturile de modificare rezervate. Toate drepturile rezervate. © Certest Biotec, S.L.

Toate celelalte mărci comerciale care apar pe acest prospect sunt proprietatea respectivilor deținători.



Certest Biotec, S.L.

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

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

Informații privind sponsorul australian:

Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.

Macquarie Park NSW 2113, Australia

Informații privind sponsorul din Noua Zeelandă:

Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.

Mt. Wellington Auckland 1060, Noua Zeelandă

Controlul modificărilor		
Versiunea nr.	Modificări	Data
00	Versiunea originală Această versiune este o traducere a documentului original în limba engleză: IUo-444222en0725.00.	27.7.2025

Tabelul A 2. Tabel de control al modificărilor.

Revizie: 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.