VIASURE
by certest

Real Time PCR Detection Kit

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

Bruksanvisning

CE 2797 IVD

Denna bruksanvisning gäller för följande referenser:

PRODUKT	REFERENS
VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System	444222

Tabell A 1. Referens för produkt som ska användas med BD MAX™ System.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Se **certest.es/viasure/labeling** om ditt språk inte finns med i listan. Kontakta viasure@certest.es om ditt språk inte finns med på webbplatsen.

Obs: Användaren ska meddela tillverkaren och den behöriga myndigheten i användarens eller patientens medlemsstat i händelse av ett allvarligt tillbud kopplat till produkten.

Innehåll

1. Avsett ändamål 6
2. Sammanfattning och förklaring 6
3. Procedurprincip 7
4. Medföljande reagenser 8
5. Reagenser och utrustning som ska tillhandahållas av användaren 8
6. Transport, förvaring och användning 8
7. Försiktighetsåtgärder 9
8. Testprocedur 10
8.1. Insamling, förvaring och transport av prover 10
8.2. Provberedning och DNA-extraktion 12
8.3. PCR-protokoll 12
8.3.1. Skapa ett PCR-testprogram för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System 12
8.3.2. Installation av BD MAX™-ställ 15
8.3.3. Inställning av BD MAX™-instrument 16
8.3.4. BD MAX™-resultatrapport 17
9. Resultattolkning 17
10. Testets begränsningar 19
11. Kvalitetskontroll 20
12. Egenskaper för analytisk prestanda 21
12.1. Analytisk linjäritet 21
12.2. Analytisk sensitivitet 22
12.2.1. Blankgräns (LoB) 22
12.2.2. Detektionsgräns (LoD) 22
12.3. Mätintervall 22
12.4. Noggrannhet 23
12.4.1. Riktighet 23
12.4.2. Precision 24
12.4.3. Noggrannhet 27
12.5. Analytisk specificitet och reaktivitet 27

12.5.1. Analytisk specificitet 27

12.5.2. Analytisk reaktivitet 32

12.6. Metrologisk spårbarhet 33

13. Kliniska prestandaegenskaper 34

Bibliografi 35

Symboler för IVD-komponenter och reagenser 36

Varumärken 36

SVENSKA

1. Avsett ändamål

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System är ett automatiserat qPCR-test utformat för samtidig kvalitativ detektion av DNA från Herpes simplex-virus 1 (HSV-1), Herpes simplex-virus 2 (HSV-2) och *Treponema pallidum* (syfilis) i provtagningspinnar från anogenitala och orala hudlesioner hos patienter som av sjukvårdspersonal (HCP) misstänks ha en infektion med HSV-1, HSV-2 och *T. pallidum*. Detta test är avsett att användas som en hjälp för diagnostik av infektion med den mikroorganism som nämns ovan, i kombination med patientens kliniska tecken och symtom och/eller epidemiologiska riskfaktorer. Positiva resultat indikerar att målnukleinsyra förekommer, men utesluter inte förekomst av andra patogener som inte detekteras av testet. Negativa resultat utesluter inte förekomst av målnukleinsyra och ska inte användas som den enda grunden för beslut om behandling eller annan klinisk handläggning. Analysen utförs i BD MAX™ System för automatiserad extraktion av DNA och efterföljande qPCR som automatiskt extraherar DNA och genomför qPCR med både medföljande och universella reagenser samt engångsartiklar. DNA extraheras från prover, amplifieras med qPCR och detekteras med specifika primrar och fluorescerande rapportörfärgprober för HSV-1, HSV-2 och *T. pallidum*.

Produkten är avsedd att användas av kvalificerad och utbildad klinisk laboratoriepersonal som specifikt har instruerats och utbildats i tekniker med realtids-PCR och diagnostiska in vitro-förfaranden (inklusive utbildning om realtids-PCR-instrument (termocykler) och system för nukleinsyraextraktion).

2. Sammanfattning och förklaring

Humant Herpes simplex-virus (HSV) typ 1 och 2 är två av de vanligaste humana virusen världen över. De associeras ofta med sjukdomar som munsår, genital herpes, stromal herpeskeratit, meningit och encefalit (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). HSV påverkar främst huden och slemhinnorna och orsakar ihållande infektioner med perioder av vila (latens) och återkommande sjukdom (reaktivering) (Cole, 2020; Minaya et al., 2017). Överföring av både HSV-1 och HSV-2 sker genom oral kontakt, medan HSV-2-infektioner inträffar senare, vanligen genom sexuell överföring. De kliniska manifestationerna av dessa virus är mycket varierande: asymtomatiska, milda eller livshotande (Cole, 2020; WHO, 2023; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Hos de flesta immunkompetenta personer leder HSV-infektion till en mild och självläkande sjukdom (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). HSV-infektion är dock också associerad med hög morbiditet och mortalitet hos vissa individer, såsom immunsupprimerade patienter som drabbas av återkommande HSV-infektion (Cole, 2020; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Det har noterats att en infektion med en typ av HSV vanligtvis genererar immunitet som förhindrar återinfektion med samma serotyp, men inte med den andra (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021).

Spiroketen *Treponema pallidum* orsakar venerisk syfilis, yaws, endemisk syfilis och pinta. Dessa sjukdomar utvecklas i flera steg och kan bara särskiljas baserat på kliniska, epidemiologiska och geografiska kriterier (Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023; Radolf et al., 2016; Tudor et al., 2022). *T. p. pertenue* är associerad med yaws, *T. carateum* med pinta och *T. p. endemicum* med endemisk syfilis, men *T. pallidum* subsp. *pallidum* är den enda underarten som är kopplad till venerisk syfilis (Mercuri et al., 2022; Tudor et al., 2022).

Syfilis utvecklas i olika steg. Varje steg har typiska symtom, till exempel schanker vid primär syfilis och utslag eller sår vid sekundär syfilis (CDC, 2023; Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023). På grund av de varierande kliniska manifestationerna kallas syfilis för ”den stora imitatören” (Peeling et al., 2023; Tudor et al., 2022). Denna sjukdom har drabbat olika riskgrupper genom historien. Även om den nästan utrotades 1998 har dess incidens ökat sedan år 2000 (Mercuri et al., 2022).

Testning för att skilja HSV-1 från HSV-2 rekommenderas alltid, eftersom det påverkar både prognos och behandling. CDC rekommenderar att den kliniska diagnosen bekräftas med typspecifika tester för virologi och serologi (Cole, 2020). En tillförlitlig laboratoriemetod för att diagnostisera akuta genitala HSV-infektioner är detektion av HSV-1- och HSV-2-DNA genom polymeraskedjereaktion (PCR) (Cole, 2020). För *T. pallidum* baseras laboratoriediagnosen på direkt detektion och serologisk testning, eftersom patogenen inte kan odlas (Forrestel et al., 2020). Serologiska tester kan dock inte skilja syfilis från andra treponemainfektioner på grund av den stora genetiska likheten mellan patogena treponemer (Forrestel et al., 2020). Nukleinsyraförstärkningstekniker, såsom PCR, möjliggör detektion av bakteriellt DNA i kliniska prover under de tidiga stadierna av sjukdomen. De erbjuder en potentiell strategi för att kontrollera syfilisepidemin på grund av sin höga känslighet (Peeling et al., 2023).

3. Procedurprincip

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System är utformat för samtidig kvalitativ detektion av DNA från Herpes simplex-virus 1 (HSV-1), Herpes simplex-virus 2 (HSV-2) och *Treponema pallidum* (syfilis) i provtagningspinnar från anogenitala och orala hudlesioner. Efter DNA-isolering utförs identifiering av HSV-1, HSV-2 och *T. pallidum* genom amplifiering av en konserverad region av *glykoprotein L UL1*-genen i HSV-1, *glykoprotein G US4*-genen i HSV-2 och *16S rRNA*-genen i *T. pallidum* med användning av specifika primrar och fluorescensmärkta prober.

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System baseras på DNA-polymerasets 5’-exonukleasaktivitet. Under DNA-amplifieringen klyver detta enzym proben som är bunden till den komplementära DNA-sekvensen, vilket separerar quencher-färgen från rapportören. Denna reaktion genererar en ökning av fluorescenssignalen som är proportionell mot mängden av målmall. Denna fluorescens mäts på BD MAX™ System.

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System innehåller i varje rör alla nödvändiga komponenter för en realtid-PCR-analys (specifika primrar/prober, dNTP:er, buffert, polymeras) i ett stabiliserat[1] format, samt en endogen intern kontroll (EIC) (humant *RNAase P*-gen) för att följa provets integritet, övervaka extraktionsprocessen och/eller utesluta hämning av polymerasaktiviteten. Humana housekeeping-gener deltar i cellens grundläggande funktioner och finns därför i alla kärnförsedda humanceller, med relativt stabila uttrycksnivåer.

Mål	Kanal	Gen
HSV-1	475/520	*Glykoprotein L UL1*-gen
HSV-2	530/565	*Glykoprotein G US4*-gen
T. pallidum	630/665	*16S rRNA*-gen
Endogen intern kontroll (EIC)	585/630	*RNAse P*

Tabell 1. Mål, kanal och gener.

[1] Observera att termerna ”stabiliserad” och ”frystorkad” används utan åtskillnad och som synonymer i hela dokumentet.

4. Medföljande reagenser

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System omfattar följande material och reagenser som anges i tabell 2:

Reagens/material	Beskrivning	Koncentrations-intervall	Kod	Mängd
HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum reaction tube	Lyoskyddsämnen och stabiliseringsämnen	± 6 g/100 ml*	1E-folie	2 påsar med 12 genomskinliga rör
	Nukleotidtrifosfat (dNTP)	± 1 mM*		
	Primrar och prober	0,2–1 nmol/µl*		
	Enzymer	10–100 U/reaktion*		
Rehydration Buffer tube	Blandning med koksaltlösning	± 13 mM	11-folie	1 påse med 24 genomskinliga rör
	Buffert (TRIS, pH)	± 67 mM		

Tabell 2. Reagenser och material som medföljer VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System med kat- nr. 444222.
*** Koncentrationsintervallet betyder efter rehydrering för komponent i stabiliserat format.**

5. Reagenser och utrustning som ska tillhandahållas av användaren

Följande lista omfattar material som krävs för användning men som inte medföljer i VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

- Realtids-PCR-instrument: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 eller 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vortexblandare.
- Mikropipetter (noggrannhet mellan 2 och 1 000 µl).
- Nukleasfritt vatten.
- Filterspetsar.
- Puderfria engångshandskar.

Valfritt:

- Externa kontrollmaterial kan köras som en del av kvalitetskontrollproceduren för analysens prestandaegenskaper. Kommersiellt tillgängligt kontrollmaterial och/eller prover som tidigare har karakteriserats som positiva eller negativa kan användas som extern positiv kontroll (EPC) respektive extern negativ kontroll (ENC). Valet och valideringen av EPC och ENC måste göras enligt gällande lokala, regionala och/eller nationella regler och laboratoriets standardförfaranden för kvalitetskontroll. Dessutom måste användaren följa respektive bruksanvisning när kommersiellt tillgängligt kontrollmaterial används.

6. Transport, förvaring och användning

- Satserna kan transporteras och förvaras vid 2–30 °C fram till utgångsdatumet som anges på satsens etikett.
- Undvik vibrationer under transport för att förhindra vätskeläckage.
- Efter att ha öppnat de aluminiumpåsarna som innehåller reaktionsrören kan produkten användas i upp till 28 dagar vid 2–30 °C. Förvara injektionsflaskan skyddad mot ljus.

Följande tabell sammanfattar förhållandena för transport, förvaring och användning för kitet som helhet och varje komponent:

Komponent	Transportförhållanden	Förvaringsförhållanden	Användningsförhållanden
Hela VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay* for BD MAX™ System	2–30 °C under hållbarhetstiden som anges på satsens etikett.	**Före användning:** 2–30 °C under hållbarhetstiden som anges på satsens etikett.	** Se användningsförhållanden för varje komponent.*
HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum reaction tube (1E-folie)		**Före användning:** 2–30 °C under hållbarhetstiden som anges på satsens etikett. **Efter öppnande av påse med kiselgel**: 2–30 °C i upp till 28 dagar.	Rumstemperatur.
Rehydration Buffer tube		**Före användning:** 2–30 °C under hållbarhetstiden som anges på satsens etikett. **Efter öppnande av påse med kiselgel**: 2–30 °C i upp till 28 dagar.	Rumstemperatur.

Tabell 3. Sammanfattning av förhållanden för transport, förvaring och användning av VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System och varje komponent.

7. Försiktighetsåtgärder

- Produkten är avsedd att användas av kvalificerad och utbildad klinisk laboratoriepersonal som specifikt har instruerats och utbildats i tekniker med realtids-PCR och diagnostiska *in vitro*-förfaranden.
- För *in vitro*-diagnostik.
- Bruksanvisningen för VIASURE-produkten och användarhandboken för BD MAX™ System måste läsas noga före användning av VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Utför inte analysen innan du har tagit del av och förstått informationen om förfaranden, säkerhetsåtgärder och begränsningar i bruksanvisningen.
- Använd inte utgångna reagenser och/eller utgånget material.
- Använd inte kitet om etiketten som förseglar ytterkartongen är bruten.
- Använd inte reagenser om den skyddande lådan är öppen eller om förseglingen är bruten vid ankomst.
- Använd inte reagenser om de skyddande påsarna är öppna eller om förseglingen är bruten vid ankomst.
- Använd inte reagenser om torkmedel inte finns eller inte har fungerat i reagenspåsarna.
- Ta inte ut torkmedel från reagenspåsarna.
- Använd inte reagenserna om folien är bruten eller skadad.
- Blanda inte reagenser från olika påsar och/eller satser och/eller partier.
- Stäng reagensernas skyddande påsar med blixtlåsförseglingen direkt efter varje användning för att skydda masterblandningen från solljus. Avlägsna eventuell luft i påsarna före försegling.
- Skydda reagenserna mot fukt. Längre tids exponering för fukt kan påverka produktprestanda.
- Undvik att använda produkten i närheten av lösningsmedel för att undvika att etiketten skadas.
- Testets funktion påverkas inte om reaktionsblandningen i stabiliserad form, vanligtvis i botten av röret, inte ser ut som vanligt (utan konisk form, icke-homogen, mindre/större i storlek och/eller annan färg än vit).
- Se till att reaktionsröret och rehydreringsbuffertröret placeras säkert på plats under inställning av BD MAX™-stället.
- Om du utför andra PCR-tester i samma laboratorieområde ska du vara noggrann med att undvika kontaminering av VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, övriga

reagenser som används vid testningen samt BD MAX™ System. Undvik alltid kontamination av reagenser från mikroorganismer och ribonukleas (RNas)/deoxyribonukleas (DNas). Användning av sterila, RNas/DNas-fria och aerosolresistenta pipettspetsar eller pipettspetsar av typen positiv förskjutning (”positive displacement”) rekommenderas. Använd en ny spets för varje prov. Skyddshandskar måste bytas före hantering av reagenser och kassetter (BD MAX™ PCR Cartridge).

- I syfte att undvika kontamination av miljön med amplikoner ska BD MAX™ PCR Cartridge inte brytas itu efter användning. Tätningarna på BD MAX™ PCR Cartridge är utformade för att förhindra kontamination.
- Utforma ett enkelriktat arbetsflöde. Det bör börja i extraktionsområdet och sedan flytta till amplifierings- och detektionsområdet. Flytta inte prover, utrustning och reagenser tillbaka till området där det föregående steget utfördes.
- Följ god laboratoriesed (Good Laboratory Practices, GLP). Använd skyddskläder, använd engångshandskar, skyddsglasögon och munskydd. Ät inte, drick inte, rök inte och använd inte smink i arbetsområdet. Tvätta händerna efter att testet har slutförts.
- Prover måste behandlas som potentiellt smittförande och/eller biofarliga, precis som alla reagenser och allt material som har exponerats för proverna. De måste hanteras enligt nationella säkerhetsbestämmelser. Vidta nödvändiga försiktighetsåtgärder vid insamling, transport, förvaring, hantering och kassering av prover.
- Prover och reagenser måste hanteras i ett biologiskt säkerhetsskåp. Använd personlig skyddsutrustning som uppfyller gällande riktlinjer för hantering av potentiellt smittsamma prover. Kassera avfall enligt lokala och nationella bestämmelser.
- Regelbunden dekontaminering av den utrustning som används ofta rekommenderas, särskilt mikropipetter och arbetsytor.
- I enlighet med förordning (EG) nr 1907/2006 (REACH) krävs inget säkerhetsdatablad för VIASURE Assays for BD MAX™ System på grund av deras klassificering som ofarliga för hälsa och miljö, eftersom de inte innehåller ämnen och/eller blandningar som uppfyller kriterierna för faroklassificering i förordning (EG) nr 1272/2008 (CLP), eller som är i koncentrationer högre än det värde som fastställts i nämnda förordning för deras deklaration. Ett utlåtande som anger att det inte finns något krav på säkerhetsdatablad kan begäras från Certest Biotec S.L.
- Se till att definiera PCR-testprogrammet på BD MAX™ System enligt anvisningarna i avsnittet ”PCR-protokoll” (provextraktionsparametrar, anpassade streckkoder, PCR-inställningar osv.).
- Se användarhandboken för BD MAX™ System för ytterligare varningar, försiktighetsåtgärder och procedurer.
- Analyscertifikatet medföljer inte enheten men det kan laddas ned från Certest Biotec S.L. (www.certest.es) vid behov.

8. Testprocedur

8.1. Insamling, förvaring och transport av prover

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System har testats på prover av anogenitala och orala hudlesioner som samlats in med Copan ESwab® provtagningspinnar (Copan’s Liquid Amies Elution Swab) (hädanefter kallade prover från naturliga hudlesioner). Andra typer av prover måste valideras av användaren.

Insamling, förvaring och transport av prover ska utföras enligt de villkor som validerats av användaren. I allmänhet ska kliniska prover samlas in och märkas på lämpligt sätt i rena behållare med eller utan transportmedium (beroende på provtyp). Efter insamling ska proverna placeras i en påse för biologiska risker och ska transporteras och bearbetas så snart som möjligt för att garantera testets kvalitet. Proverna ska transporteras vid rumstemperatur eller vid 2±2 °C i upp till 48 timmar i enlighet med lokala och nationella bestämmelser för transport av patogent material. För långvarig transport rekommenderar vi –20 °C eller lägre[2]. Prover som skickas in för molekylär testning måste förvaras under kontrollerade förhållanden, så att inte nukleinsyrorna bryts ned under förvaringen. Det rekommenderas att använda färska prover för testet, men om detta inte är möjligt, eller vid en retrospektiv studie, ska proverna förvaras vid –70 eller –80 °C i första hand och vid –20 °C i andra hand[3].

De kliniska proverna måste samlas in, transporteras och förvaras enligt lämpliga laboratorieriktlinjer och/eller laboratoriepolicymanualer. Som exempel, se IDSA-riktlinjen (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: uppdaterad 2018 av Infectious Diseases Society of America och American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94) eller Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J. & Orta Mira, N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin. (English ed.) 37, 127–134 (2019).

Observera: De föreslagna rutinerna för hur proverna ska samlas in, transporteras och förvaras bygger på rekommendationer för urogenitala prover som används för att detektera nukleinsyror, enligt de tidigare nämnda riktlinjerna. Vi rekommenderar att laboratorieriktlinjerna och/eller policyhandboken för laboratorium för lämplig transport och bevarande av prover följs oavsett omständigheter.

En intern stabilitetsstudie för prover utfördes med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System med en negativ matris av prover från naturliga hudlesioner berikad med humant herpesvirus 1, stam KOS (ATCC® VR-1493, ref. FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus typ 2, stam MS (ref. 0810006CF, Zeptometrix) och *Treponema pallidum*, stam SS14 (Washington University) vid 3xLoD-koncentration. Stabiliteten analyserades med tre olika analyser: inbäddad primär provstabilitet med stabilitet i SBT vid 2±2 °C och 25±2 °C, primär provstabilitet vid –20±2 °C och frys- (–80 °C) och upptiningscykler (25 °C). Resultaten visade på god prestanda för prover förvarade under alla testade förhållanden. Sammanfattningsvis, när det gäller primär provstabilitet, är naturliga prover av hudlesioner stabila efter 48 timmar vid 2±2 °C och 25±2 °C. När det gäller stabilitet i SBT är proverna stabila efter 7 dagar i SBT vid 2±2 °C och 25±2 °C (efter att ha förvarats i upp till 48 timmar vid 2±2 °C och 25±2 °C före tillsättning i SBT). Dessutom är proverna stabila efter sex månaders förvaring vid –20±2 °C och klarar minst fem frys- och upptiningscykler utan att påverkas.

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

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

8.2. Provberedning och DNA-extraktion

Utför provberedning enligt rekommendationerna i bruksanvisningen för extraktionssatsen som används, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipettera 500 µl prov i ett BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube (provbuffertrör) och stäng röret med ett membranlock. Säkerställ fullständig blandning genom att vortexa provet vid hög hastighet i 1 minut. Fortsätt till drift av BD MAX™ System Operation.

   Obs: Säkerställ att vortexblandning utförs några minuter före start av körningen. Om samma provrör (BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube) används för omtestning rekommenderas att skaka röret manuellt i några minuter före teststart för att säkerställa att provet är korrekt homogeniserat.

Observera att användaren ansvarar för att ta fram och validera provberedningsprocedurer som är anpassade till den aktuella tillämpningen. Vissa provtyper kan dessutom kräva särskild förbehandling.

8.3. PCR-protokoll

Obs: Se användarhandboken för BD MAX™ System för detaljerade anvisningar.

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

Obs: Om du redan har skapat testet för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kan du hoppa över steg 8.3.1 och gå direkt till 8.3.2.

1) Välj fliken ”Test Editor” (Testredigerare) på skärmen ”Run” (Kör) på BD MAX™ System.
2) Klicka på knappen ”Create” (Skapa).

På fliken ”Basic Information” (Grundläggande information):

3) I fältet ”Test Name” (Testnamn), namnge ditt test: dvs. VIASURE HHT.

   Obs: Testnamnet måste vara unikt och får inte ha fler än tjugo tecken.

4) Välj ”ExK TNA-3” i listrutan ”Extraction Type” (Extraktionstyp).
5) I listrutan ”Master Mix Format” (Masterblandningsform), välj ”Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer” (Typ 5: Koncentrerad frystorkad MM med rehydreringsbuffert).
6) I fältet ”Sample Extraction Parameters” (Provextraktionsparametrar) väljer du ”User Defined” (Användardefinierad) och justerar följande parametervärden (tabell 4).

Sample Extraction Parameters (Provextraktionsparametrar)	*Value (units)* (Värde (enheter))
Lysis Heat Time **(Lysvärmetid)**	15 (min)
Lysis Temperature **(Lystemperatur)**	55 (°C)
Sample Tip Height **(Provtagningsspetsens höjd)**	1600 (steg)
Sample Volume **(Provvolym)**	475 (µl)
Wash Volume **(Tvättvolym)**	500 (µl)
Neutralization Volume **(Neutraliseringsvolym)**	N/A
DNase Heat Time **(DNas värmetid)**	N/A

Tabell 4. Parametrar för provextraktion utförd med BD MAX™ ExK™ TNA-3.

7) Välj ”Call Ct at Threshold Crossing” (Hämta Ct vid tröskelvärdesgräns) i fältet ”Ct Calculation” (Ct-beräkning) (standardval).

8) Välj följande konfiguration i fältet ”Custom Barcodes” (Anpassa streckkoder) om du kör programvaruversion 5.00 eller senare och använder streckkodade och folieförsedda rör som ska knäppas fast:

   a. ”Snap-In 2 Barcode” (Streckkod för rör 2): 1E (gällande *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* reaction tube).

   b. ”Snap-In 3 Barcode” (Streckkod för rör 3): 11 (gällande Rehydration Buffer tube).

I fliken ”PCR Settings” (PCR-inställningar):

9) Ange även följande parametrar i fältet ”PCR Settings” (PCR-inställningar) i tabell 5: ”Alias” (upp till sju alfanumeriska tecken), ”PCR Gain” (PCR-förstärkning), ”Threshold” (Tröskelvärde), ”Ct Min” och ”Ct Max”.

Channel (Kanal)	*Alias* (Alias)	*PCR Gain* (PCR-förstärkning)	*Threshold* (Tröskelvärde)	*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

Tabell 5. PCR settings (PCR-inställningar).

Obs: Det rekommenderas att ställa in de minimitröskelvärden som anges ovan för varje kanal som en startpunkt. De slutliga inställningarna måste dock fastställas av slutanvändaren under resultattolkningen. Detta för att säkerställa att tröskelvärdena faller inom fluorescenskurvornas exponentiella fas och över eventuell bakgrundssignal. Tröskelvärdet för olika instrument kan variera på grund av olika signalintensiteter.

10) Ange även följande parametrar i fältet ”Color compensation” (Färgkompensation) (tabell 6).

		False Receiving Channel (Falsk mottagarkanal)				
	Channel **(Kanal)**	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel **(Excitationskanal)**	475/520	–	4	0	0	0
	530/565	0	–	0	0	0
	585/630	0	0	–	4	0
	630/665	0	0	0	–	0
	680/715	0	0	0	0	–

Tabell 6. ”Color compensation” (Färgkompensation) -parametrar.

I fliken ”Melt Settings” (Smältinställningar) behövs ingen åtgärd, den är inte tillämplig för denna produkt.

I fliken ”Test Steps” (Teststeg):

11) Ange stegets namn (upp till tjugo tecken) och ställ in följande parametrar för att definiera varje steg i PCR-protokollet: ”Profile Type” (Profiltyp), ”Cycles” (Cykler), ”Time” (Tid) och ”Temperature” (Temperatur) och välj fältet ”Detect” (Detektion) för att definiera detektionssteget (tabell 7). Klicka på knappen ”Add” (Lägg till) för att lägga till ett nytt steg och upprepa tills alla nödvändiga steg är definierade.

    Obs: Fältet ”Type” (Typ) måste vara tomt.

Step (Steg)	*Step name* (Stegnamn)	*Profile Type* (Profiltyp)	*Cycles* (Cykler)	*Time (s)* (Tid (s))	*Temperature* (Temperatur)	*Detect* (Detektion)
Initial denaturation (Inledande denaturering)	IN-denaturation	*Hold*	1	120	98 °C	–
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturering och hybridisering/förlängning (datainsamling))	Annealing/Extension	*2-Temperature*	45	10	95 °C	–
				41	63 °C	✓

Tabell 7. PCR-protokoll.

I fliken ”Result Logic” (Resultatlogik):

12) I fältet ”Target” (Målsekvens): dvs. HSV1 (upp till sju alfanumeriska tecken). Upprepa steg 12–15 för varje målsekvens (dvs. HSV2 eller TRE) enligt tabellerna som är specifika för den målsekvens som definieras.

13) Klicka i rutan ”Analyze” (Analysera) för att inkludera de önskade våglängderna (PCR-kanaler) i målsekvensens resultatanalys (tabell 8–10).

Wavelength (Våglängd)	*Alias* (Alias)	*Type* (Typ)	*Analyze* (Analys)
475/520	HSV1	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tabell 8. Val av PCR-kanaler i fliken ”Result logic” (Resultatlogik) för HSV1 (Herpes simplex virus 1)-målsekvens.

Wavelength (Våglängd)	*Alias* (Alias)	*Type* (Typ)	*Analyze* (Analys)
530/565	HSV2	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tabell 9. Val av PCR-kanaler i fliken ”Result logic” (Resultatlogik) för HSV2 (Herpes simplex virus 2)-målsekvens.

Wavelength (Våglängd)	*Alias* (Alias)	*Type* (Typ)	*Analyze* (Analys)
585/630	EIC	PCR	✓
630/665	TRE	PCR	✓

Tabell 10. Val av PCR-kanaler i fliken ”Result logic” (Resultatlogik) för TRE (*Treponema pallidum)*-målsekvens.

14) Klicka på knappen ”Edit Logic” (Redigera logik).

15) I fönstret ”Edit Logic” (Redigera logik) listas alla kombinationer av resultattyper. Välj resultatet som kallas när villkoren i den raden uppfylls i listrutemenyn ”Result” (Resultat) för varje rad enligt tabell 11–13.

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

Tabell 11. Lista över kombinationen av resultattyper och resultatlogik för HSV1 (Herpes simplex 1)-målsekvens. Tillgängliga resultat är POS (positivt), NEG (negativt) och UNR (olöst).

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

Tabell 12. Lista över kombinationen av resultattyper och resultatlogik för HSV2 (Herpes simplex 2)-målsekvens. Tillgängliga resultat är POS (positivt), NEG (negativt) och UNR (olöst).

Result (Resultat)	TRE (630/665)	EIC (585/630)
POS	Valid (Giltigt)	Valid (Giltigt)
UNR	Valid (Giltigt)	Invalid (Ogiltigt)
NEG	Invalid (Ogiltigt)	Valid (Giltigt)
UNR	Invalid (Ogiltigt)	Invalid (Ogiltigt)

Tabell 13. Lista över kombinationen av resultattyper och resultatlogik för TRE (*Treponema pallidum*)-målsekvens. Tillgängliga resultat är POS (positivt), NEG (negativt) och UNR (olöst).

Obs: Enligt det tidigare definierade Ct Max (tabell 5) anses resultattyp för kanalerna HSV1 (475/520), HSV2 (530/565), EIC (585/630) och TRE (630/665) vara ”Valid” (Giltigt) när det erhållna Ct-värdet är ≤40 och ”Invalid” (Ogiltigt) när det erhållna Ct-värdet är >40.

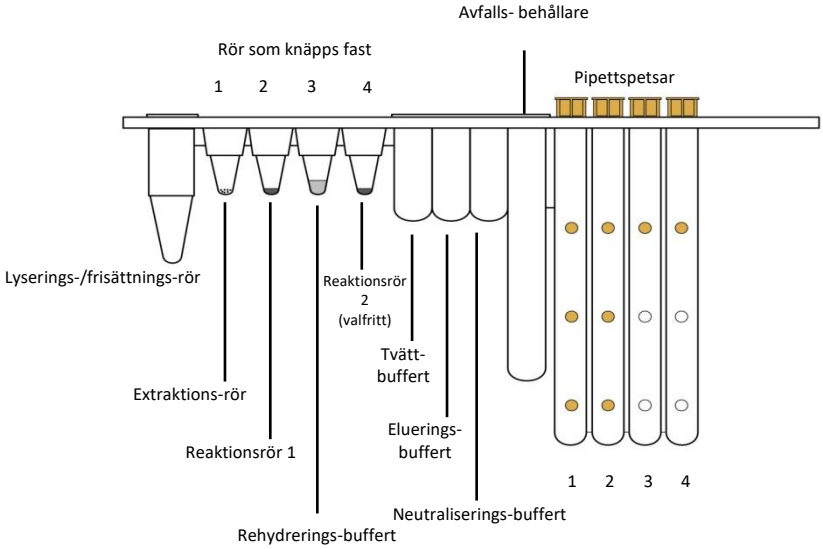
16) Klicka på knappen ”Save” (Spara) för att spara testet.

8.3.2. Installation av BD MAX™-ställ

1) För varje prov som ska testas ska du ta ut en Unitized Reagent Strips från BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit. Knacka försiktigt varje remsa mot en hård yta för att säkerställa att alla vätskor finns på rörens botten och ladda den på provrörsstället för BD MAX™ System.
2) Ta ut nödvändigt antal BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (extraktionsrör) (B4) (vit folie) från den skyddande påsen. Knäpp fast extraktionsrören (vit folie) på motsvarande positioner på TNA-remsan (rörposition 1, vit färgkodning på stället. Se figur 1). Avlägsna överskott av luft och stäng påsen med blixtlåsförseglingen.
3) Bestäm och separera lämpligt antal *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* reaction tubes (reaktionsrör) (1E-folie) och knäpp fast dem på motsvarande positioner på remsan (rörposition 2, grön färgkodning på stället. Se figur 1).
    a. Avlägsna överskott av luft och stäng aluminiumpåsarna med blixtlåsförseglingen.
    b. Utför en korrekt rehydrering genom att se till att den frystorkade produkten finns på rörets botten och att den inte klibbar fast på rörets övre del eller på folieförseglingen. Knacka försiktigt varje rör mot en hård yta för att se till att all produkt hamnar på botten av röret.

4) Ta ut lämpligt antal Rehydration Buffer tubes (11-folie) och knäpp fast rören på motsvarande positioner på remsan (rörposition 3, färglös kodning på stället. Se figur 1).
    a. Avlägsna överskott av luft och stäng påsen med blixtlåsförseglingen.
    b. Utför en korrekt överföring genom att se till att vätskan finns på rörets botten och att den inte klibbar fast på rörets övre del eller på folieförseglingen. Knacka försiktigt varje rör mot en hård yta för att se till att all buffert hamnar på botten av röret.

Figur 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) från BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit.



8.3.3. Inställning av BD MAX™-instrument

1) Välj fliken ”Worklist” (Arbetslista) på skärmen ”Run” (Kör) i programvara v4.50A eller senare för BD MAX™ System.
2) I listrutan ”Test” väljer du önskat test: dvs. VIASURE HHT (se avsnitt 8.3.1 om det inte redan har skapats).
3) I listrutan ”Kit Lot Number” (Satspartinummer) väljer du lämpligt lotnummer för satsen (finns på den använda extraktionssatsens ytterkartong) (valfritt).

    Obs: Partinummer måste definieras i displayen ”Inventory” (Lager) innan de kan väljas här.
4) Ange Sample Buffer Tube-identifikationsnumret i fältet “Sample tube” (Provrör), antingen genom att läsa av streckkoden med en streckkodsläsare eller genom manuell inmatning.
5) Fyll i fältet ”Patient ID” och/eller ”Accession” (Tillträde) och klicka på Tab- eller Enter-tangenten. Fortsätt tills alla Sample Buffer Tubes (provbuffertrör) -streckkoder har angivits. Säkerställ att ”Specimen/Patient ID” (Prov-/patient-ID) och Sample Buffer Tubes (provbuffertrör) noga överensstämmer.
6) Placera det förberedda Sample Buffer Tube (provbuffertröret) i BD MAX™ ställ.
7) Ladda stället/ställen i BD MAX™ System (ställ A är positionerat på den vänstra sidan av BD MAX™ System och ställ B på dess högra sida).
8) Placera lämpligt antal BD MAX™ PCR Cartridge i BD MAX™ System.
9) Stäng luckan på BD MAX™ System.

10) Klicka på ”Start” (Starta) för att påbörja proceduren.

8.3.4. BD MAX™-resultatrapport

1) Klicka på knappen ”Results” (Resultat) i menyraden.
2) Dubbelklicka antingen på din körning i listan eller tryck på knappen ”View” (Visning).
3) Knappen ”Print” (Skriv ut) och ”Export” längst ned på skärmen aktiveras.

Så här skriver du ut resultaten:

1. Klicka på knappen ”Print” (Skriv ut).
2. Välj i fönstret ”Print” (Skriv ut) förhandsgranskning av körningsrapporten: “Run Details” (Körningsinformation), “Test Details” (Testinformation) och “Plots” (Kurva).
3. Klicka på ”Print” (Skriv ut) för att skriva ut rapporten eller klicka på ”Export” för att exportera en PDF av rapporten till ett USB-minne.

Så här exporterar du resultaten:

1. Klicka på knappen ”Export” för att överföra rapporten (PDF- och CSV-fil) till ett USB-minne.
2. När exporten är klar visas ikonen för lyckad/misslyckad i fönstret ”Results Export” (Resultatexport).

9. Resultattolkning

Se användarhandboken för BD MAX™ System för en detaljerad beskrivning av dataanalys.

Dataanalys utförs av BD MAX™-programvaran enligt tillverkarens anvisningar. BD MAX™-programvaran rapporterar Ct-värden och amplifieringskurvor för varje detektorkanal för varje testat prov på följande sätt:

– Ct-värde på 0 anger att det inte fanns något Ct-värde beräknat av programvaran med det specificerade tröskelvärdet (se tabell 5). Amplifieringskurvan för provet med ett Ct-värde på 0 måste kontrolleras manuellt.

- Ct-värdet -1 anger att ingen amplifieringsprocess har inträffat, att inget Ct-värde beräknats av programvaran eller att det beräknade Ct-värdet ligger under den angivna tröskeln eller över fastställt Ct-max (gränsvärde).

– Alla andra Ct-värden ska tolkas i korrelation med amplifieringskurvan och i enlighet med den definierade resultatlogiken samt provtolkningsriktlinjerna i tabell 14.

Kontrollera signalen för den endogena interna kontrollen (EIC) för att bekräfta att amplifieringsblandningen fungerar korrekt. Kontrollera också att det inte finns någon rapport om fel på BD MAX™ System.

Resultat bör avläsas och analyseras med hjälp av följande tabell:

HSV-1 (namn på mål: HSV1)	HSV-2 (namn på mål: HSV2)	*T. pallidum* (namn på mål: TRE)	Tolkning av patientens individuella prover
POS	POS	POS	**DNA från HSV-1, HSV-2 och *Treponema pallidum* påvisat.**
POS	POS	NEG	**DNA från HSV-1 och HSV-2 påvisat. DNA från *Treponema pallidum* inte påvisat.**
POS	NEG	POS	**DNA från HSV-1 och *Treponema pallidum* påvisat. DNA från HSV-2 inte påvisat.**
NEG	POS	POS	**DNA från HSV-2 och *Treponema pallidum* påvisat. DNA från HSV-1 inte påvisat.**
POS	NEG	NEG	**DNA från HSV-1 påvisat. DNA från HSV-2 och *Treponema pallidum* inte påvisat.**
NEG	POS	NEG	**DNA från HSV-2 påvisat. DNA från HSV-1 och *Treponema pallidum* inte påvisat.**
NEG	NEG	POS	**DNA från *Treponema pallidum* påvisat. DNA från HSV-1 och HSV-2 inte påvisat.**
NEG	NEG	NEG	**DNA från HSV-1, HSV-2 eller *Treponema pallidum* inte påvisat.**
UNR	UNR	UNR	**Olösta resultat (UNR) erhålls när det förekommer inhibitorer i PCR-reaktionen eller när ett allmänt problem (som inte rapporterats av en felkod) inträffar under bearbetningen av provet och/eller amplifieringen.[1]**
IND	IND	IND	**Obestämt analysresultat (IND). Beror på fel på BD MAX™ System. Analysresultat som visas vid instrumentfel som är kopplade till en felkod.[2]**
INC	INC	INC	**Ofullständigt analysresultat (INC). Beror på fel på BD MAX™ System. Analysresultat som visas om körningen inte kan slutföras.[2]**

Tabell 14. Provtolkning.

1 Den endogena interna kontrollen (EIC) måste visa en amplifieringssignal med Ct-värde ≤40 för att beaktas. Om det inte förekommer någon signal för EIC eller om Ct-värdet är >40 anses resultatet vara ”Unresolved (UNR)” och omtestning krävs. Det rekommenderas att upprepa analysen från samma provbuffertrör, från samma prov med ett nytt provbuffertrör eller från ett nytt prov (mer koncentrerat om möjligt). Det kan också inträffa att det olösta (UNR) resultatet beror på förekomst av inhibitorer i PCR-reaktionen. I dessa fall rekommenderas att späda dessa prover 1/10.

OBS! Prover från naturliga hudlesioner kan förvaras utan överföring till provbuffertrör i upp till 48 timmar om de förvaras vid 2±2 °C–25±2 °C (anges i ESwab® från Copan). Om du gör en omtestning från samma provbuffertrör, skaka provbuffertröret manuellt för att säkerställa att provet är ordentligt homogeniserat. Observera att prover från naturliga hudlesioner kan förvaras i provbuffertröret i upp till 7 dagar vid 2±2 °C–25±2 °C.

2 Obestämda (IND) eller ofullständiga (INC) resultat kan erhållas på grund av ett systemfel och omtestning krävs. Se användarhandboken för BD MAX™ System för tolkning av varnings- och felkoder.

Obs: När du använder externa kontroller ska de ge följande förväntade resultat: negativt för ENC och positivt för EPC (kända positiva prover förväntas vara positiva endast för de mikroorganismer som finns i provet). En ENC som ger ett positivt testresultat indikerar en kontaminering eller ett fel vid provtagningshantering. En EPC som ger ett negativt resultat indikerar ett problem med provtagningshantering. Se över tekniken för provtagningshantering/ provberedning. Omtestning krävs om ett fel inträffar med en extern kontroll.

Om ett otydligt resultat visas kontinuerligt rekommenderas att konsultera bruksanvisningen, granska den använda extraktionsprocessen, verifiera korrekt prestanda för varje PCR-steg och granska parametrarna samt att kontrollera kurvans sigmoidala form på kurvan och fluorescensintensiteten.

Resultat av testet bör utvärderas av sjukvårdspersonal med beaktande av medicinsk anamnes, kliniska symtom och andra diagnostiska tester.

10. Testets begränsningar

- Resultat av testet bör utvärderas av sjukvårdspersonal med beaktande av medicinsk anamnes, kliniska symtom och andra diagnostiska tester.
- Även om denna analys kan användas med andra typer av prover, har den validerats enbart med provtagningsprover från anogenitala och orala hudlesioner.
- Den frystorkade produkten ska finnas i botten av röret för god testprestanda och inte häfta fast vid rörets överdel eller folieförseglingen. Knacka försiktigt varje rör mot en hård yta för att se till att all produkt hamnar på botten av röret.
- Möjlig överhörning kan observeras i tomma kanaler i BD MAX™ System om det inte finns något mål att detektera, så endast kanalerna där dessa amplifieras ska väljas vid tolkning av resultat. Kontakta viasuresupport@certest.es om du har några frågor.
- Kvaliteten på testet beror på provets kvalitet. Extraktion av nukleinsyra måste ske på lämpligt sätt från kliniska prover.
- Detta test är kvalitativt och ger inga kvantitativa värden och anger inte antalet förekommande organismer. Det är inte möjligt att korrelera Ct-värdena som erhålls från PCR med koncentrationen av provet, eftersom de beror på den använda termocyklern och själva körningen.
- Extremt låga nivåer av mål under detektionsgränsen kan detekteras men resultaten är kanske inte reproducerbara.
- Observera analysens avsedda mätintervall eftersom prover med koncentrationer över eller under detta intervall kan ge felaktiga resultat.
- Det finns en risk för falskt positiva resultat på grund av korskontamination från HSV-1-, HSV-2- och/eller *T. pallidum*-prover som innehåller höga koncentrationer av målnukleinsyra, eller genom kontamination med PCR-produkter från tidigare reaktioner.
- Den specifika kombinationen av primer/prob för detektion av *glykoprotein L UL1*-genen i HSV-1, *glykoprotein G US4*-genen i HSV-2 och *16S rRNA*-genen i *T. pallidum* som används i VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System uppvisar inte signifikanta homologier med humangenom, human mikroflora eller andra mikroorganismer, vilket kan ge upphov till falskt positiva resultat.
- Falskt negativa resultat kan inträffa på grund av flera faktorer och kombinationer av dessa, inklusive:
    - Olämplig insamling, transport, förvaring och/eller hantering av prover.
    - Olämpliga processförfaranden (inklusive DNA-extraktion).
    - Nedbrytning av DNA under provtransport/-förvaring och/eller bearbetning.
    - Mutationer eller polymorfismer i primer- eller probbindande regioner kan påverka detektion av nya eller okända stammar av HSV-1, HSV-2 och/eller *T. pallidum*.
    - Mikrobiell belastning i provet under analysens detektionsgräns.

- Förekomsten av qPCR-hämmare eller andra typer av störande ämnen. Inverkan av vacciner, vissa antivirala läkemedel, antibiotika, cellgifter, immunhämmande läkemedel eller antimykotiska medel som används för att förhindra infektionen eller som används under behandlingen av infektionen har inte utvärderats.
- Effekten av störande ämnen har endast utvärderats för de ämnen som anges i avsnitt 12.5.1 (”Study of interfering substances” (Studie av störande ämnen)) i denna bruksanvisning. Se detta avsnitt för att kontrollera de vanligaste endogena och exogena ämnen som framkallar en total eller partiell störning av qPCR-reaktionen. Andra ämnen som inte anges i denna del kan leda till felaktiga resultat.
- Underlåtelse att följa bruksanvisningar och analysförfarandet.

- Ett positivt testresultat anger inte nödvändigtvis förekomsten av livskraftiga mikroorganismer och antyder inte att dessa mikroorganismer är smittsamma eller orsakar kliniska symtom. Ett positivt resultat anger dock förekomst av HSV-1-, HSV-2- och/eller *T. pallidum*-målsekvenser.
- Negativa resultat utesluter inte förekomst av HSV-1-, HSV-2- och/eller *T. pallidum*-DNA i ett kliniskt prov och ska inte användas som den enda grunden för beslut om behandling eller annan klinisk handläggning. Optimala provtyper och tidpunkter för högsta nivå av mikroorganismer vid infektioner orsakade HSV-1, HSV-2 och/eller *T. pallidum* har inte fastställts. Insamling av flera prover (typer och tidpunkter) från samma patient kan bli nödvändig för att detektera patogenen.
- Om diagnostiska tester för andra sexuellt överförbara sjukdomar är negativa och kliniska observationer, anamnes och epidemiologisk information antyder att infektion av HSV-1, HSV-2 och/eller *T. pallidum* är möjlig, ska förekomsten av ett falskt negativt resultat övervägas och omtestning av patienten diskuteras.
- Fluorescensvärden kan variera på grund av flera faktorer såsom: PCR-utrustning (även om det är samma modell), extraktionssystem, provtyp, tidigare behandling av provet osv.
- Positiva och negativa prediktiva värden är starkt beroende av prevalens i alla *in vitro*-diagnostiska tester. Prestanda för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kan variera beroende på prevalensen och den testade populationen.
- Om resultaten blir olösta, obestämda eller ofullständiga med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System krävs omtestning. Olösta prover kan orsakas av förekomst av hämmare i provet eller inkorrekt återhydrering av röret med frystorkad reaktionsblandning. Om det föreligger ett instrumentfel kommer obestämda eller ofullständiga resultat att erhållas.

11. Kvalitetskontroll

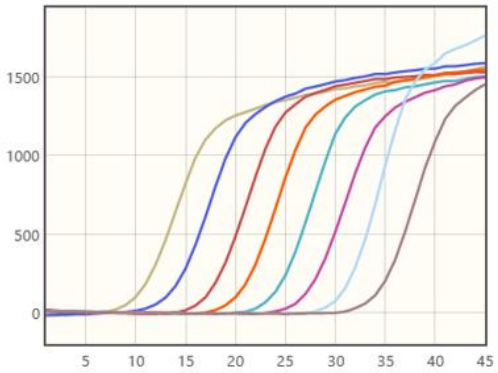
VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System innehåller en endogen intern kontroll (EIC) i varje reaktionsrör som bekräftar korrekt prestanda för tekniken. Användning av externa kontroller (EPC och ENC) gör det dessutom möjligt att bekräfta analysens prestanda. Externa kontroller används inte av BD MAX™ System för tolkning av resultat utan betraktas som ett prov. Extern positiv kontroll (EPC) är avsedd att övervaka en eventuell brist på analysreagenser, medan extern negativ kontroll (ENC) är avsedd att detektera miljö- eller reagenskontaminering av målnukleinsyror.

12. Egenskaper för analytisk prestanda

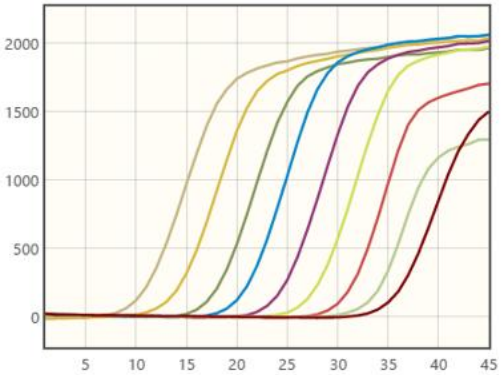
12.1. Analytisk linjäritet

Analysens linjäritet bestämdes och bekräftades genom att testa en serie tiofaldiga spädningar av artificiell matris för hudlesioner[4] (Artificial Matrix for Cutaneous Lesion, Biochemazone BZ394) innehållande en känd koncentration (från 2E+07 till 2E+01 kopior/µl) av specifikt syntetiskt DNA från HSV-1, HSV-2 och T. pallidum. Exempel på amplifieringskurva från en analys visas nedan:

Figur 2. Spädningsserie för en körning av HSV-1 (2E+07 till 2E+01 kopior per µl) -genmall på BD MAX™ System (475/520 (FAM)-kanal).

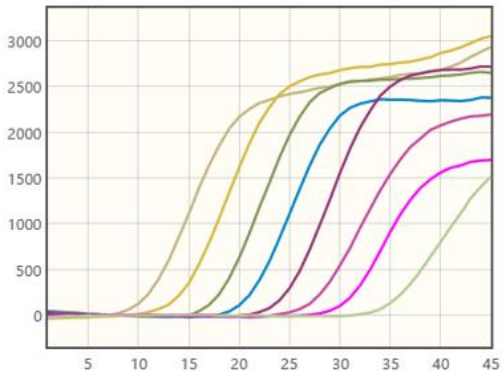


Figur 3. Spädningsserie för en körning av HSV-2 (2E+07 till 2E+01 kopior per µl) -genmall på BD MAX™ System (530/565 (HEX)-kanal).



[4] På grund av den begränsade tillgången på anogenitala och orala hudlesionsprover utfördes en ekvivalensstudie av naturlig matris kontra artificiell matris för att bekräfta att den artificiella matrisen kunde användas i valideringsanalyser. Därför testades både naturliga och artificiella matriser och bekräftades vara likvärdiga.

Figur 4. Spädningsserie för en körning av *T. pallidum* (2E+07 till 2E+01 kopior per µl) -genmall på BD MAX™ System (630/665 (Cy5)-kanal).



12.2. Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet kallas ofta för detektionsgräns (LoD). I praktiken bestäms LoD- och LoB-parametrar som en del av utvärderingen av analytisk sensitivitet.

12.2.1. Blankgräns (LoB)

För att bestämma blankgränsen (LoB) utfördes en NTC-analys (analys utan mall) med tre satser av VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System och 24 replikat av tre typer av prover: negativa prover av naturliga hudlesioner, artificiell hudlesionsmatris och RNas-/DNas-fritt vatten.

Avsaknadenav signal i FAM-, HEX- och Cy5-kanalerna verifierades, liksom förekomsten av signal för den endogena interna kontrollen (EIC) i ROX-kanalen vid negativ matris (naturlig eller simulerad hudlesionsmatris). Sammanfattningsvis bekräftade de erhållna resultaten att produkten inte genererar ospecifika amplifieringar i de olika testade matriserna.

12.2.2. Detektionsgräns (LoD)

Detektionsgränsen (LoD) för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System analyserades med tre satser och prover av naturliga hudlesioner. Referensstammarna som användes var humant herpesvirus 1, stam KOS (ATCC® VR-1493, ref FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus typ 2, stam MS (ref. 0810006CF (Zeptometrix)) och *Treponema pallidum*, stam SS14 (Washington University). Sammanfattningsvis visade VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System en LoD på 2,52E+02 TCID50/ml för HSV-1, 6,30E+00 TCID50/ml för HSV-2 och 6,60E+03 celler/ml för *T. pallidum*, med en andel positiva på ≥95 % i prover av naturliga hudlesioner.

12.3. Mätintervall

Analysens mätintervall bestämdes genom att testa en serie tiofaldiga spädningar innehållande en känd koncentration av specifikt DNA från HSV-1, HSV-2 och *T. pallidum*. Resultaten gjorde det möjligt att bekräfta korrekt detektion av respektive mål 2E+07 till 2E+00 kopior/µl för HSV-1- och *T. pallidum-mål* och från 2E+07 till 2E-01 kopior/µl för HSV-2-mål.

Sammanfattningsvis bestämdes mätområdet för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System framgångsrikt, vilket säkerställer tillförlitliga, exakta och reproducerbara resultat över ett brett spektrum av virus- och bakteriebelastningar, och bekräftar dess användbarhet i olika kliniska diagnosscenarier.

12.4. Noggrannhet

12.4.1. Riktighet

Riktighet för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System utvärderades genom att testa referensmaterialet som anges nedan, tillsatt i hudlesionsmatris.

1. **Syntetiska DNA-fragment**
    - Syntetiskt DNA-fragment för *glykoprotein L UL1*-genen hos HSV-1: HSV1.XPC, FAM-kanal.
    - Syntetiskt DNA-fragment för *glykoprotein G US4*-genen hos HSV-2: HSV2.XPC, HEX-kanal.
    - Syntetiskt DNA-fragment för *16S-rRNA*-genen hos *T. pallidum*: TREXPC, Cy5-kanal.

Alla syntetiska DNA-fragment detekterades korrekt i lämplig kanal.

2. **The American Type Culture Collection (ATCC®)**

Extern referens	Mikroorganism	Produktnamn	Variant	Resultat
VR-1493	Herpes simplexvirus 1	Human herpesvirus 1	Stam KOS	Detekterad
VR-260	Herpes simplexvirus 1	Human Herpesvirus 1	Stam HF	Detekterad
VR-539	Herpes simplexvirus 1	Human Herpesvirus 1	Stam MacIntyre	Detekterad
VR-733	Herpes simplexvirus 1	Human Herpesvirus 1	Stam F	Detekterad
VR-3393	Herpes simplexvirus 2	Human Herpesvirus 2	Stam G	Detekterad
VR-1779	Herpes simplexvirus 2	Human Herpesvirus 2	Stam ATCC-2011-2	Detekterad
BAA-2642SD	*Treponema pallidum*	Quantitative Synthetic *Treponema pallidum* DNA	N/A	Inte detekterad

Tabell 15. Referensmaterial från American Type Culture Collection (ATCC®).

Alla stammar från ATCC detekterades korrekt i respektive kanal och den interna extraktionskontrollen (EIC) visade amplifiering med ett Ct-värde på ≤40, med undantag för Quantitative Synthetic *Treponema pallidum* DNA (ATCC-kod BAA-2642SD). Detta syntetiska DNA inkluderar fragment av *polA*-genen, *23S*-genen, *16S*-genen, *flaA, 47kDa*-proteingenen och *bmp*. Dock tyder avsaknaden av detektion vid mycket hög koncentration (upp till 4,70E+04 kopior/µl) med VIASURE Assay på att dess målregion inom *16S*-genen inte ingår i det syntetiska DNA:t från ATCC. Därför kan det inte användas som referensmaterial.

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

Extern referens	Mikroorganism	Produktnamn	Variant	Resultat
16/368	Herpes simplexvirus 1	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1)	N/A	Detekterad
17/122	Herpes simplexvirus 2	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2)	N/A	Detekterad

Tabell 16. Referensmaterial från National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC).

Alla stammar från NIBSC detekterades korrekt i lämplig kanal och EIC visade amplifiering med ett Ct-värde på ≤40.

4. Kontrollmaterial

Extern referens	Ursprung	Mikroorganism	Produktnamn	Variant	Resultat
0810006CF	ZeptoMetrix	Herpes simplexvirus 2	Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV-2)	Stam MS	Detekterad
MBC109	Vircell S.L.	*Treponema pallidum*	AMPLIRUN® TREPONEMA PALLIDUM DNA CONTROL	N/A	Detekterad
N/A	University of Washington	*Treponema pallidum*	Heat-killed *Treponema pallidum*	Stam Nichols	Detekterad
N/A	University of Washington	*Treponema pallidum*	Heat-killed *Treponema pallidum*	Stam SS14	Detekterad

Tabell 17. Kontrollmaterial för HSV-2 och *T. pallidum* från Vircell S.L, ZeptoMetrix och University of Washington.

Alla stammar och allt referensmaterial som användes detekterades korrekt i respektive kanal och EIC visade amplifiering med ett Ct-värde på ≤40.

12.4.2. Precision

För att bestämma precisionen för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System utfördes intra-analys (repeterbarhet), inter-analys, inter-sats och inter-utrustningsanalyser (reproducerbarhet) med artificiell matris för hudlesioner inokulerad med referensstammarna Humant herpesvirus 1, stam KOS (ATCC® VR-1493, ref FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus typ 2, stam MS (ref. 0810006CF (Zeptometrix)) och *Treponema pallidum*, stam SS14 (Washington University).

Intra-analys

Intra-analys testades genom att analysera sex replikat av alla prover i samma körning med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. En sammanfattning av resultat visas i tabellen nedan.

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

Tabell 18. Resultat av intra-analys för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = tröskelcykel. ($\bar{x}$) = aritmetiskt Ct-medelvärde, (σ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, NEG = negativt, N/A = ej tillämpligt.

Inter-analys

Inter-analys testades genom testning av fyra replikat för de olika proverna under tre olika dagar av tre olika operatörer med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. En sammanfattning av resultat visas i tabellen nedan.

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

Tabell 19. Resultat inter-analys för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = tröskelcykel. ($\bar{x}$) = aritmetiskt Ct-medelvärde, (σ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, NEG = negativt, N/A = ej tillämpligt.

Inter-sats

Värdena för analys inter-sats bestämdes med sex replikat av olika prover genom användning av tre satser av VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. En sammanfattning av resultat visas i tabellen nedan.

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

Tabell 20. Resultat inter-sats för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = tröskelcykel. ($\bar{x}$) = aritmetiskt Ct-medelvärde, (σ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, NEG = negativt, N/A = ej tillämpligt.

Inter-utrustningsanalyser

Värdena för analys inter-utrustningsanalyser bestämdes med fyra replikat av samma prover som användes för analys inom analys, mellan analyser och mellan satser med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System och tre olika BD MAX™ System. En sammanfattning av resultat visas i tabellen nedan.

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

Tabell 21. Resultat inter-utrustningsanalyser för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = tröskelcykel. ($\bar{x}$) = aritmetiskt Ct-medelvärde, (σ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, NEG = negativt, N/A = ej tillämpligt.

Sammanfattningsvis bekräftade precisionsstudien den tillförlitliga prestandan och konsekvensen hos VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

12.4.3. Noggrannhet

Noggrannhetsstudien utfördes genom analys av paneler från externa kvalitetsbedömningsprogram (EQA-program). Prover som innehöll HSV-1, HSV-2 eller *T. pallidum* bland andra icke-målmikroorganismer analyserades. Alla testresultat, som visas i följande tabell, jämfördes med de slutliga rapporterna som tillhandahölls av EQA-programmens organisatörer.

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

Tabell 22. Noggrannhetsresultat med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (ORA) = överensstämmelse totalt, (TP) = sant positivt, (TN) = sant negativt, (FP) = falskt positivt, (FN) = falskt negativt, (PPA) = positiv procentöverensstämmelse, (NPA) = negativ procent överensstämmelse.

Sammanfattningsvis ger VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System hög noggrannhet vid detektion av DNA från HSV-1, HSV-2 och *T. pallidum* med utmärkta NPA- och PPA-värden för alla testade stammar.

12.5. Analytisk specificitet och reaktivitet

Den analytiska specificiteten och reaktiviteten utvärderades för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System *in silico* och experimentellt och med användning av olika startmaterial, såsom certifierade referensstammar, certifierat referens-RNA/DNA och material från EQA-program.

12.5.1. Analytisk specificitet

Analytisk specificitet är analysens förmåga att detektera den avsedda målsekvensen. Det finns fyra komponenter att beakta för analytisk specificitet: korsreaktivitet, saminfektion, mikrobiell interferens och substansinterferens. Korsreaktivitet kan uppstå om genetiskt närbesläktade mikroorganismer finns i patientprovet. Mikrobiell interferens kan förekomma om sådana närbesläktade mikroorganismer påverkar detektionen av målmikroorganismerna när de förekommer samtidigt. Studien av saminfektion syftar på motsvarande sätt till att bedöma om målmikroorganismer i olika koncentrationer i samma prov kan påverka detektionen av varandra. Slutligen kan substansinterferens inträffa om förekomsten av specifika substanser som eventuellt finns i provmatrisen påverkar qPCR-prestandan.

Korsreaktivitet *in silico*-analys

Korsreaktiviteten bedömdes genom att använda referenssekvenser av patogenerna från NCBI GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) och verktyg för sekvensalignering som BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), en intern programvara för bioinformatikanalys.

Resultaten omfattar enbart sekvenser med mer än 80 % homologi. Alignerade sekvenser med en homologi under 80 % bedömdes som osannolika att detekteras.

Treponema pallidum

Alla analyserade sekvenser uppvisade lägre än 80 % homologi med primers och probset för *T. pallidum*.

In silico-analys av korsreaktivitet visade 100 % homologi med *Treponema paraluiscuniculi* (taxid-ID: 53435 och 545766). Enligt en NCBI-sökning visades dock dessa sekvenser vara heterotypa eller taxonomiskt synonyma och motsvarar även *Treponema pallidum*.

Därför kan ingen av de analyserade sekvenserna, inklusive de som visar en homologi högre än 80 %, påverka korrekt detektion av *Treponema pallidum*.

Human alphaherpesvirus 1

Alla analyserade sekvenser uppvisade lägre än 80 % homologi med primer- och probset för HSV-1.

In silico-analys av korsreaktivitet visade 98,33 % homologi med Chimpanzee alfa-1-herpesvirus, stam 105640 (taxid-ID: 332937). Värd för denna stam av alfaherpesvirus är schimpansen (*Pan troglodytes*). Herpesvirus är mycket värdspecifika och delar en lång synkron utveckling med sina värdar. Detta virus har inte identifierats hos människa och anses för närvarande inte vara ett zoonotiskt virus, så det påverkar inte detekteringen HSV-1.

Därför kan ingen av de analyserade sekvenserna, inklusive de som visar en homologi högre än 80 %, påverka korrekt detektion av HSV-1.

Human alphaherpesvirus 2

Alla analyserade sekvenser uppvisade lägre än 80 % homologi med primer- och probset för HSV-2.

Sammanfattningsvis bör målutformningen för HSV-1, HSV-2 och *T. pallidum* för VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System inte orsaka falskt positiva resultat vid detektion av *Treponema pallidum*, humant alfaherpesvirus 1 och humant alfaherpesvirus 2 när andra organismer är närvarande.

Analytisk specificitet, experimentell testning

Korsreaktivitet, experimentell testning

Korsreaktiviteten för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System bekräftades genom testning av en panel med olika mikroorganismer associerade med symtom på sexuellt överförda infektioner eller miljömässigt och fylogenetiskt relevanta mikroorganismer. När det var möjligt och när koncentrationsdata fanns tillgängliga utvärderades mikroorganismer som interfererade på medicinskt relevanta nivåer (vanligtvis 1E+05 – 1E+06 cfu (kolonibildande enhet)/ml för bakterier/svampar och 1E+04 – 1E+05 pfu (plackbildande enhet)/ml för virus). Ingen korsreaktivitet detekterades mellan någon av följande mikroorganismer som testades, förutom med målmikroorganismerna.

Test av korsreaktivitet					
Acinetobacter baumannii 5377 [NCDC KC 755]	–	*Haemophilus influenzae*, stam L-378	–	*Listeria monocytogenes* serovar 4b	–
Aspergillus fumigatus Fresenius 1863 CECT 2071	–	Hepatitis A HM175/18f	–	Monkeypox virus	–
Atopobium vaginae	–	Herpes Simplex Virus type-1 1st WHO IS for HSV-1	+	*Mycoplasma genitalium* stam M30	–
Bacteroides fragilis	–	Herpes Simplex Virus type-2 1st WHO IS for HSV-2	+	*Mycoplasma hominis* stam LBD-4	–
Candida albicans	–	Herpes Virus 2, stam MS	+	*Neisseria gonorhoeae,* stam NCTC 8375 [B 5025]	–
Candida glabrata	–	Human Herpesvirus, stam 1 HF	+	*Neisseria meningitidis*, stam M2091	–
Candida krusei Issatchenkia orientalis Kudryavtsev 1960 CECT 1433	–	Human Herpesvirus 1, stam F	+	*Proteous mirabilis* NCDC 2059-70	–
Candida parapsilosis	–	Human Herpesvirus 1, stam KOS (ATCC-VR-1493)	+	*Pseudomonas aeruginosa,* stam RH 815	–
Candida tropicalis (Castellani) Berkhout 1923 CECT 1005	–	Human Herpesvirus 1, stam MacIntyre	+	*Serratia marcescens* subsp. marcescens	–
Chlamydia trachomatis serovar E	–	Human Herpesvirus 2, stam ATCC-2011-2	+	*Staphylococccus aureus* subsp. aureus, stam Seattle 1945	–
Citrobacter freundii	–	Human Herpesvirus 2, stam G	+	*Stenotrophomonas maltophilia,* stam 810-2	–
Enterobacter cloacae subsp. cloacae	–	Human papillomavirus 16	–	*Treponema pallidum* DNA Control, Vircell	+
Enterococcus faecalis, typstam CECT 8120	–	Human papillomavirus 18	–	*Treponema pallidum*, stam Nichols	+
Enterococcus faecium vanA, stam CECT 5253	–	*Klebsiella oxytoca,* stam MIT 10-5243	–	*Treponema pallidum*, stam SS14	+
Epstein-Barr Virus 1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	–	*Klebsiella pneumoniae,* stam UHKPC57	–	*Trichomonas vaginalis*, QCMD TV18S-01	–
Escherichia coli, typstam	–	*Listeria innocua*	–	*Ureaplasma urealyticum,* T-stam 960 (CX8) [960, CIP 103755, NCTC 10177]	–
Gardnerella vaginalis 594 [NCTC 10287]	–	*Listeria ivanovii* subsp. Iondoniensis	–	Varicella Zoster Virus, stam Ellen	–
Haemophilus ducreyi, klass I	–	*Listeria monocytogenes* serovar 1/2	–		

Tabell 23. Patogena referensmikroorganismer som ingår i analysen av korsreaktivitet. Resultatet +/– avser det positiva eller negativa resultat som erhållits i de olika kanalerna beroende på vilket mål som detekterats. Om en testad mikroorganism är ett av målen som detekteras av enheten erhålls ett positivt resultat i motsvarande kanal, men ett negativt resultat i de andra kanalerna.

Sammanfattningsvis indikerar resultaten från korsreaktivitetstesterna hög specificitet för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, vilket minimerar risken för falskt positiva resultat. Eftersom ingen icke-specifik amplifiering observerades med andra besläktade mikroorganismer tyder detta på att enheten kan skilja målen åt på ett korrekt sätt.

Studie av saminfektion

En studie av saminfektion utfördes med Human herpesvirus 1, stam KOS (ATCC® VR-1493, ref FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus typ 2, stam MS (ref. 0810006CF (Zeptometrix)) och *Treponema pallidum*, stam SS14 (Washington University) vid olika koncentrationer, för att bekräfta att förekomsten av någon av dem, oberoende av koncentrationen, inte påverkar detektionen sinsemellan. Tre negativa matrisprover från naturliga hudlesioner som tillsatts referensmaterial analyserades: ett mål vid låg koncentration (3xLoD) och övriga mål vid mycket hög koncentration, vanligtvis 1E+04 – 1E+05 enheter/ml, om möjligt.

Resultaten bekräftar att detekteringen av målmikroorganismerna inte påverkas när analyserna utförs med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, även vid saminfektioner med varierande koncentrationer.

Studie av störande mikrobiella agens

En studie av mikrobiell interferens utfördes för att analysera potentiellt interfererande mikrobiella agens för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. En panel av olika kliniskt, miljömässigt och fylogenetiskt relevanta mikroorganismer testades i närvaro av målorganismerna HSV-1, HSV-2 och *T. pallidum* med en negativ matris av naturliga hudlesioner inokulerade med humant herpesvirus 1, stam KOS (ATCC® VR-1493, ref FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus typ 2, stam MS (ref. 0810006CF (Zeptometrix)) och *Treponema pallidum*, stam SS14 (Washington University). När det var möjligt och koncentrationsdata fanns tillgängliga utvärderades virus, bakterier och/eller svampar som interfererade på medicinskt relevanta nivåer (vanligtvis 1E+05 – 1E+06 cfu/ml för bakterier/svampar och 1E+04 – 1E+05 pfu/ml för virus).

Positiv matriskontroll (Positive Matrix Control, PMC) och negativ matriskontroll (Negative Matrix Control, NMC) inkluderades som kontroller för testet. PMC motsvarar den negativa matris som inokulerats med specifika målstammar utan något interfererande mikrobiellt agens, medan NMC motsvarar den negativa matrisen utan något interfererande mikrobiellt agens.

Mikroorganismens namn	Testad koncentration	Resultat
PMC	N/A	I.S.
NMC	N/A	I.S.
Aspergillus fumigatus	Inte tillgängligt	I.S.
Atopobium vaginae	4,52E+03 cfu/µl	I.S.
Candida albicans	4,18E+03 cfu/µl	I.S.
Candida glabrata	2,46E+03 cfu/µl	I.S.
Candida parapsilosis	Inte tillgängligt	I.S.
Candida tropicalis	3,04E+04 cp/µl	I.S.
Chlamydia trachomatis serovar E	3,20E+06 IFU/ml	I.S.
Enterobacter cloacae	1,28E+03 cfu/µl	I.S.
1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	5,00E+04 IU/ml	I.S.
Gardnerella vaginalis 594 [NCTC 10287]	4,40E+05 cfu/ml	I.S.
Haemophilus ducreyi, klass I	1,40E+02 cp/µl	I.S.
Haemophilus influenzae	1,20E+03 cfu/µl	I.S.
Hepatit A	2,80E+03 TCID50/µl	I.S.
Klebsiella oxytoca	Inte tillgängligt	I.S.
Klebsiella pneumoniae	Inte tillgängligt	I.S.
Listeria innocua	Inte tillgängligt	I.S.
Listeria ivanovii subsp. Iondoniensis	Inte tillgängligt	I.S.
Listeria monocytogenes (CECT 4031)	2,90E+03 cfu/µl	I.S.
Listeria monocytogenes (CECT 935)	2,70E+03 cfu/µl	I.S.
Mycoplasma hominis	4,40E+03 cfu/µl	I.S.
Mycoplasma genitalium	3,80E+03 cfu/µl	I.S.

Neisseria gonorhoeae	6,20E+03 cfu/µl	I.S.
Neisseria meningitidis	5,70E+04 cfu/µl	I.S.
Pseudomonas aeruginosa	4,90E+04 cfu/µl	I.S.
Staphylococccus aureus	4,60E+04 cfu/µl	I.S.
Stenotrophomonas maltophilia	9,20E+03 cfu/µl	I.S.
Ureaplasma urealyticum	2,00E+04 cfu/µl	I.S.
Acinetobacter baumannii 5377 [NCDC KC 755]	8,10E+05 cfu/ml	I.S.
Bacteroides fragilis	3,40E+02 cp/µl	I.S.
Enterococcus faecalis typstam	5,00E+05 cfu/ml	I.S.
Enterococcus faecium vanA	3,50E+05 cfu/ml	I.S.
Humant papillomvirus 16	1,00E+03 IU/µl	I.S.
Humant papillomvirus 18	1,00E+03 IU/µl	I.S.
Serratia marcescens	2,30E+05 cfu/ml	I.S.
Varicella zoster-virus	7,26E+04 cfu/ml	I.S.
Citrobacter freundii typstam	6,20E+02 cfu/µl	I.S.
Escherichia coli typstam	5,20E+02 cfu/µl	I.S.
Proteus mirabilis	2,55E+01 cfu/µl	I.S.
Apkoppsvirus	1,50E+03 cp/ml	I.S.

Tabell 24. Analys av störande mikrobiella agens. I.S. = Ingen interferens, (PMC) = Positive Matrix Control, (NMC) = Negative Matrix Control, (TCID50): infektionsdos för vävnadskultur 50 %, (IU): internationella enheter, (cfu): kolonibildande enheter, (cp): kopior, (IFU): infekterande enheter.

Sammanfattningsvis observerades ingen interferens vid detektion av målnukleinsyran med någon av de testade mikroorganismerna.

Studie av störande ämnen

En studie av interfererande substanser genomfördes för att undersöka potentiella störningseffekter av endogena och exogena substanser på VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Totalt 22 potentiellt interfererande ämnen tillsattes till den negativa matrisen av naturliga hudlesioner som berikats med referensstammar: Human herpesvirus 1, stam KOS (ATCC® VR-1493, ref FR-310 (IRR)), Herpes simplex-virus typ 2, stam MS (ref. 0810006CF (Zeptometrix)) och *Treponema pallidum*, stam SS14 (Washington University) analyserades i sex replikat.

Positiv matriskontroll (Positive Matrix Control, PMC) och negativ matriskontroll (Negative Matrix Control, NMC) inkluderades som kontroller för testet. PMC motsvarar den negativa matrisen som inokulerats med specifika målstammar utan någon interfererande substans, medan NMC motsvarar den negativa matrisen utan interfererande substans och utan tillsatta mikroorganismer/referensmaterial. Följande resultat erhölls:

Ämnets namn	Testad koncentration	Resultat
PMC	N/A	I.S.
NMC	N/A	I.S.
Aciklovir	6,60E-02 mg/ml	I.S.
Albumin	1,00E+01 mg/ml	I.S.
Helblod	1,00E+00% (v/v)	I.S.
Leukocyter/monocyter	1,00E+06 cell/ml	I.S.

Mucin	2,50E+00 mg/ml	I.S.
Clamiox (hydrokortison)	2,50E+00 mg/ml	I.S.
Neosayomol (difenhydramin)	3,87E-02 mg/ml	I.S.
Letibalm (läppbalsam)	2,50E+00 mg/ml	I.S.
Kasein	7,00E+00 mg/ml	I.S.
Hemoal (bensokain)	2,50E+00 mg/ml	I.S.
Durex Frescor	5,00E+01 cfu/ml	I.S.
SOIVRE Intim Oil	5,00E+01 cfu/ml	S
	1,25E+01 µl/ml	I.S.
Liade	7,20E+00 mg/ml	I.S.
Urin från kvinnor	1,00E+01% (v/v)	I.S.
Urin från män	1,00E+01% (v/v)	I.S.
Avföring	2,20E-01 % (v/v)	I.S.
Sädesvätska	5,00E+00% (v/v)	I.S.
Hälleflundra	2,50E+00 mg/ml	I.S.
Vagisilkräm	7,50E-01 mg/ml	I.S.
Majsstärkelse	2,50E+00 mg/ml	I.S.
Talquistina	2,64E+00% (v/v)	S
	6,60E-01% (v/v)	S
	3,30E-01% (v/v)	S
	1,70E-01% (v/v)	I.S.
Tiokonazol	2,50E+00 mg/ml	I.S.

Tabell 25. Potentiellt störande ämnen. I.S: Ingen rapporterbar störning/S: Störning.

Olika möjliga störande ämnen, både endogena och exogena, testades på VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Interferens observerades vid testning av SOIVRE Intim Oil vid 50 µl/ml och Talquistina vid 2,64 % (v/v). Spädningar utfördes tills man nådde den koncentration vid vilken dessa interferenseffekter inte längre observerades: 12,5 µl/ml för SOIVRE Intim Oil och 0,17 % (v/v) för Talquistina. De erhållna resultaten påvisade vid de testade slutkoncentrationerna att ingen störning från de utvärderade ämnena observerats.

12.5.2. Analytisk reaktivitet

Analytisk reaktivitet kan definieras som andelen av mikrobiella målstammar eller DNA/RNA-prover som ger korrekt positivt resultat. Analytisk reaktivitet studerades *in silico* och genom experimentella tester.

Analytisk reaktivitet *in silico*-analys

Den analytiska reaktiviteten för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System bedömdes med den offentligt tillgängliga nukleotidsekvensdatabasen NCBI GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) och ett internt program för bioinformatisk analys för att visa att målgenen kan detekteras korrekt av den undersökta enheten. En *in silico*-analys av primer- och probdesign genomfördes genom alignering mot totalt 4 941 analyserade sekvenser (nedladdade från databas och rensade från dubbletter) för *T. pallidum*, 9 779 för HSV-1 och 8 689 för HSV-2. Resultaten anges i följande tabell.

Treponema pallidum					
Gen	**Alignerade sekvenser: 607**				
	Utan *mismatches*	**Med *mismatches***	**Sekvenser med bekräftad detektion**	**Sekvenser utan detektion**	**Sekvenser med okänd detektion**
16S rRNA	99,84 %	0,16 %	99,84 %	0 %	0,16 %
Human alphaherpesvirus 1					
Gen	**Alignerade sekvenser: 513**				
	Utan *mismatches*	**Med *mismatches***	**Sekvenser med bekräftad detektion**	**Sekvenser utan detektion**	**Sekvenser med okänd detektion**
UL1	87,33 %	12,67 %	97,66 %	0 %	2,34 %
Human alphaherpesvirus 2					
Gen	**Alignerade sekvenser: 549**				
	Utan *mismatches*	**Med *mismatches***	**Sekvenser med bekräftad detektion**	**Sekvenser utan detektion**	**Sekvenser med okänd detektion**
US4	93,44 %	6,56 %	93,44 %	0 %	6,56 %

Tabell 26. Analytisk reaktivitet *in silico*-analys. ”Alignerade sekvenser” = antal sekvenser som har alignerats utan eller med felmatchningar från det totala antalet analyserade sekvenser, ”Sekvenser med bekräftad detektion” = sekvenser utan felmatchningar eller våtanalyserade sekvenser vars detektion är garanterad, ”Sekvenser utan detektion” = sekvenser som tidigare analyserats *in silico* och vars experimentella detektion inte kan garanteras på grund av tidigare negativt experimentellt underlag, ”Sekvenser med okänd detektion” = sekvenser som tidigare analyserats *in silico* och vars experimentella detektion inte kan garanteras på grund av avsaknad av experimentellt underlag.

Sammanfattningsvis visade inklusivitetsanalysen korrekt detektion av *16S rRNA-*, *UL1*- och *US4*-gener från *T. pallidum*, HSV-1 respektive HSV-2, med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Analytisk reaktivitet, experimentell testning

Den analytiska reaktiviteten för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System för HSV-1 utvärderades mot DNA från Human herpesvirus 1, stam HF (ATCC VR-260), Human herpesvirus 1, stam MacIntyre (ATCC-kod VR-539), Human herpesvirus 1, stam F (ATCC-kod VR-733) och 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1) (NIBSC 16/368). Testet uppvisade positiva resultat.

Den analytiska reaktiviteten för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System för HSV-2 utvärderades mot DNA från humant herpesvirus 2, stam G (ATCC-kod VR-3393), humant herpesvirus 2, stam ATCC-2011-2 (ATCC-kod VR-1779) och 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2) (NIBSC 17/122). Testet uppvisade positiva resultat.

Den analytiska reaktiviteten för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System för *T. pallidum* utvärderades mot DNA från *Treponema pallidum*, stam Nichols (University of Washington) och *Treponema pallidum* DNA Control (Vircell MBC109). Testet uppvisade positiva resultat.

12.6. Metrologisk spårbarhet

Denna analys är inte utformad för mätningsändamål.

13. Kliniska prestandaegenskaper

Den kliniska prestandan för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System testades med prover från anogenitala och orala hudlesioner som samlats in av sjukvårdspersonal med Copan eSwab®. Vid insamlingen placerades den sterila bomullspinnen (FLOQSwab) i den medföljande ampullen som innehåller 1 ml Copan's Liquid Amies Elution Swab. Resultaten var följande:

	Plats	Provtyp	Arbetsflöde	Mål
1	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Spanien) i samarbete med Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, Spanien) med prover från Biobanco del Sistema de Salud de Aragón (BSSA).	Svabbprov från anogenitala och orala hudlesioner (Retrospektiv studie)	BD MAX™ ExK™ TNA-3-kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				T. pallidum
2	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Spanien) med prover från Cerba Xpert.	Svabbprov från anogenitala och orala hudlesioner (Retrospektiv studie)	BD MAX™ ExK™ TNA-3-kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				T. pallidum

Tabell 27. Plats, provtyp, arbetsflöde och mål.

Sant positiva och negativa värden, falskt positiva och falskt negativa värden, sensitivitet, specificitet, positivt prediktiva värden (PPV), negativt prediktiva värden (NPV) och sannolikhetskvoter (LR) för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System beräknades. Resultaten och analysen av de olika studierna sammanställdes som ett enda referensvärde eftersom båda studierna använde samma referensmetod, samma typ av prover och samma inklusions-/exklusionskriterier. Resultaten anges i följande tabell:

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

Tabell 28. Sant positiva (TP) och negativa värden (TN), falskt positiva (FP) och falskt negativa (FN) värden, sensitivitet, specificitet, positivt prediktivt värden (PPV), negativt prediktivt värden (NPV) och sannolikhetskvoter (LR) för VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Sammanfattningsvis visar resultaten en hög överensstämmelse för att detektera HSV-1, HSV-2 och *T. pallidum* med VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Bibliografi

CDC. (2023). *Enfermedades de transmisión sexual (ETS)*. https://www.cdc.gov/std/spanish/sifilis/stdfact-syphilis-s.htm

Cole, S. (2020). Herpes Simplex Virus: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Nursing Clinics of North America*, *55*(3), 337–345. https://doi.org/10.1016/j.cnur.2020.05.004

Forrestel, A. K., Kovarik, C. L., & Katz, K. A. (2020). Sexually acquired syphilis: Laboratory diagnosis, management, and prevention. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *82*(1), 17–28. https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.02.074

Mercuri, S. R., Moliterni, E., Cerullo, A., Di Nicola, M. R., Rizzo, N., Bianchi, V. G., & Paolino, G. (2022). Syphilis: a mini review of the history, epidemiology and focus on microbiota. *New Microbiologica*, *45*(1), 28–34.

Minaya, M. A., Jensen, T. L., Goll, J. B., Korom, M., Datla, S. H., Belshe, R. B., & Morrison, L. A. (2017). Molecular Evolution of Herpes Simplex Virus 2 Complete Genomes: Comparison between Primary and Recurrent Infections GENETIC DIVERSITY AND EVOLUTION crossm. *American Society for Microbiology*. https://doi.org/10.1128/JVI

Peeling, R. W., Mabey, D., Chen, X. S., & Garcia, P. J. (2023). Syphilis. *The Lancet*, *402*, 336–346. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02348-0

Radolf, J. D., Deka, R. K., Anand, A., Šmajs, D., Norgard, M. V, & Yang, X. F. (2016). Treponema pallidum, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen HHS Public Access. *Nat Rev Microbiol*, *14(12)*, 744–759. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.141

Tudor, M. E., Al Aboud, A. M., & Gossman, W. (2022, July 23). *Syphilis*. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL); StatPearls Publishing. https://doi.org/10.1016/j.med.2022.04.001

WHO. (2023). *Herpes Simplex Virus*. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus

Zhu, S., & Viejo-Borbolla, A. (2021). Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence*, *12*(1), 2670–2702. https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1982373

Symboler för IVD-komponenter och reagenser

IVD	Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik		Håll torrt		Utgångsdatum		Tillverkare	LOT	Partinummer
	Se bruksanvisningen		Temperaturgräns	Σ	Innehåller tillräckligt för <n> tester	UDI	Unik enhetsidentifiering	REF	Katalognummer
CE	CE-märkning		Håll borta från solljus						

Varumärken

BD MAX™ är ett registrerat varumärke som tillhör Becton, Dickinson and Company.

Modifieringsrättigheter förbehålls. Alla rättigheter förbehålls. © Certest Biotec, S.L.

Alla andra varumärken som kan anges i denna bipacksedel är respektive ägares egendom.

Certest Biotec, S.L.
Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spanien)
Tfn. (+34) 976 520 354 | viasure@certest.es | www.certest.es

Information om australiensisk sponsor: Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road. Macquarie Park NSW 2113, Australien

Information om nyzeeländsk sponsor: Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive. Mt. Wellington Auckland 1060, Nya Zeeland

Ändringshistorik		
Versionsnr	**Ändringar**	**Datum**
00	Originalversion. Denna version är en översättning av originaldokumentet engelska: IUo-444222en0725.00	2025-07-27

Tabell A 2. Kontrolländringstabell.

Revision: 00

VIASURE
by certest

Certest Biotec, S.L.
Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1 50840,
San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)
(+34) 976 520 354
viasure@certest.es
www.certest.es

certest

F-566 rev.03

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