



PlexPCR® VHS

Multiplex realtids-PCR-assay til påvisning af Herpes simplex virus 1, Herpes simplex virus 2, Varicella zoster virus og *Treponema pallidum*



IVDR Certified

Produkt

Platform

Størrelse
(reaktioner)

Katalognr.

PlexPCR® VHS₍₆₁₀₎

LC480 II

100

REF 1121001

PlexPCR® VHS₍₅₅₀₎

ABI 7500 Fast

100

REF 1123001

PlexPCR® VHS₍₆₇₅₎

CFX96 Dx

100

REF 1125001

CFX96 Touch

Tilbehørsprodukter – Analysoftware

PlexPCR® VHS (LC480)

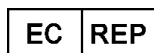
REF 99005

PlexPCR® VHS (7500)

REF 99004

PlexPCR® VHS (CFX)

REF 99006



MedEnvoy Global B.V.

Prinses Margrietplantsoen 33
Suite 123
2595 AM Haag
Nederlandene



SpeedX Pty Ltd

Suite 102, National Innovation Centre
4 Cornwallis Street, Eveleigh,
NSW 2015, Australien
Tel: +61 2 9209 4170, Email: tech@speedx.com.au

KUN TIL PROFESSIONEL ANVENDELSE*

Ikke beregnet til salg i USA

Indhold

1	Produktbeskrivelse.....	4
2	Tilsluttet anvendelse	4
3	Oplysninger om patogener.....	4
4	Kittets indhold	5
5	Forsendelse og opbevaring.....	6
6	Advarsler og forholdsregler	6
6.1	Generelt	6
6.2	Laboratorie	6
6.3	Prøvehåndtering.....	6
6.4	Assay	6
6.5	Sikkerhedsforanstaltninger	6
6.6	Assay-plugins: Advarsler/Forholdsregler/Begrænsninger	6
7	Tilhørende produkter og forbrugsartikler	7
8	Princip for teknologien.....	9
9	Overblik over proceduren.....	10
10	Detaljeret procedure.....	11
10.1	Prøveindsamling, transport og opbevaring	11
10.1.1	Godkendte prøvetagningsenheder.....	11
10.1.2	Tør pødepind til virale transportmedier, indsamling, transport og opbevaring.....	11
10.1.3	Prøvetagning, transport og opbevaring af FLOQSwab™ steril i tørt rør (Copan, kat.nr. 552C).....	11
10.1.4	Prøvetagning, transport og opbevaring af pødepind opløst i 1 mL UTM-medie (Copan, kat.nr. 350C).....	11
10.2	Prøvebehandling	11
10.3	Internal Control (intern kontrol)	12
10.3.1	Internal Control (intern kontrol) på QIASymphony® SP	12
10.3.2	Internal Control (intern kontrol) på QIAcube HT	13
10.3.3	Internal Control (intern kontrol) på MagNA Pure 96	13
10.4	Klargøring af realtids-PCR.....	13
10.4.1	Klargøring af masterblanding.....	14
11	Programmering og analyse	14
12	Fortolkning af resultater	14
13	Begrænsninger	15
14	Kvalitetskontrol.....	15
15	Instruktioner for positiv kontrol HSV/VZV/TP	15
15.1	Brugsanvisning.....	15
16	Ydeevnekarakteristika	16
16.1	Klinisk præstation	16
16.1.1	Klinisk studie 1	16
16.1.2	Klinisk studie 2	16
16.2	Analytisk præstation	17
16.2.1	Reproducerbarhed og repeterbarhed.....	17
16.2.2	Analytisk følsomhed	19
16.2.3	Analytisk specificitet	19

16.2.4	Kompetitiv interferens	20
16.2.5	Potentielt interfererende stoffer	21
17	Kundesupport og teknisk support	22
18	Referencer	22
19	Bilag 1: LightCycler® 480 Instrument II	23
19.1	Programmering af LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II)	23
19.2	Farvekompensation for LightCycler® 480 Instrument II	30
19.3	Fortolkning af resultater	31
20	Bilag 2: Applied Biosystems® 7500 Fast	32
20.1	Programmering af Applied Biosystems® 7500 Fast	32
20.2	Fortolkning af resultater	35
21	Bilag 3: Bio-Rad CFX96 Dx™ og CFX96 Touch™ Realtids-PCR-system	36
21.1	Programmering af CFX96 Dx og CFX96 Touch Real-time PCR System	36
21.2	Fortolkning af resultater	39
22	Bilag A: Fortolkning af resultater vha. <i>PlexPCR</i> ® VHS-analysesoftware	40
22.1	FastFinder-plattform – Minimumskrav til IT	40
22.2	Analyse-plugin (ny bruger)	41
22.3	Prøvenavngivning	41
22.4	Analyse	42
22.5	Resultater	44
22.5.1	Fanen Summary (Oversigt)	44
22.5.2	Fanen Details (Detaljer)	46
22.6	Referencekurve	47
22.7	Eksport af resultater	47
22.8	Hentning af autoriserede analyser	47
22.9	Kontrol eksempelgrafer	47
22.9.1	Negativ kontrol (Na)	47
22.9.2	No Template Control (Nb) (Ingen skabelonkontrol)	48
22.9.3	Positiv kontrol (alle mål) (Pa)	49
22.10	Eksempler	49
22.10.1	Eksempel 1. Positiv prøve - enkelt mål detekteret	50
22.10.2	Eksempel 2. Positiv prøve – flere mål detekteret	51
22.10.3	Eksempel 3. Negativ prøve	52
22.10.4	Eksempel 4. Ugyldig prøve	53
23	Ordliste	54

1 Produktbeskrivelse

PlexPCR[®] VHS-sættet er et kvalitativt reeltids-PCR-assay (qPCR) til påvisning af Herpes simplex virus 1 (HSV-1), Herpes simplex virus 2 (HSV-2), Varicella zoster virus (VZV) og *Treponema pallidum*. Assayet er valideret på prøver, ekstraheret med MagNA Pure 96 System (Roche), QIAAsymphony[®] SP (QIAGEN) og QIAcube HT (QIAGEN) og reeltidspåvisning på reeltids-PCR-påvisningssystemerne Applied Biosystems[®] 7500 Fast (7500 Fast), Roche LightCycler[®] 480 Instrument II (LC480 II) og Bio-Rad CFX96 Dx[™] (CFX96 Dx) og CFX96 Touch[™] (CFX96 Touch).

2 Tilsigtet anvendelse

PlexPCR[®] VHS-sættet er en *in vitro* diagnostisk reeltids-PCR-test til kvalitativ påvisning og differentiering af HSV-1, HSV-2, VZV og *T. pallidum*.

PlexPCR[®] VHS-sættet er beregnet som hjælp til diagnosticering af HSV-1, HSV-2, VZV og *T. pallidum* fra genitale, ikke-genitale, anale/rektale, og orale podningsprøver.

Negative resultater udelukker ikke infektioner med HSV-1, HSV-2, VZV og *T. pallidum* og må ikke anvendes som eneste grundlag for diagnose, behandling eller andre beslutninger om patientbehandling.

PlexPCR[®] VHS-sættet er beregnet til anvendelse i professionelle miljøer, såsom hospitaler eller referencelaboratorier eller offentlige laboratorier. Det er ikke beregnet til selvtest, hjemmebrug eller brug på behandlingsstedet.

ADVARSEL: PlexPCR[®] VHS-sættet er ikke beregnet til brug med cerebrospinalvæske eller til brug i prænatal screening.

3 Oplysninger om patogener

Herpes simplex virus serotype 1 og 2 (HSV-1 og HSV-2) og varicella zoster virus (VZV) er dobbeltstrengede DNA-vira, der tilhører familien Herpesviridae¹. Infektioner med HSV-1 og HSV-2 hos mennesker kan give skader på en række steder, herunder ved munden/ansigtet, genitalierne, øjnene, huden og centralnervesystemet. Der kan forekomme læsioner ved primær infektion eller reaktivering af latent infektion. HSV-1 forårsager i overvejende grad infektioner i mund/ansigt, mens HSV-2 typisk er forbundet med seksuelt overførte infektioner². Primær infektion med VZV forårsager skoldkopper, og reaktivering i nervesystemet senere i livet producerer Herpes zoster³. Kutane prøver omfatter hud og penis og mukokutane prøver omfatter områderne ved øjne, mund og vagina. I sjældnere tilfælde kan herpes-vira også være forbundet med viral encephalitis og meningitis samt neonatale infektioner forårsaget af perinatal transmission.

Treponema pallidum-underarten *pallidum* (*T. pallidum*) er en spirokæt, der er den underliggende årsag til syfilis, en seksuelt overført sygdom, der kan inficere en række forskellige væv og organer. De typiske kendetegn ved primær syfilis er forekomsten af en kutan læsion, kaldet chanker, ved infektionsstedet⁴. Dette sker normalt i de genitale områder, men kan også opstå ved ekstragenitale vaccinationssteder, herunder områder ved mund/ansigt. Sekundær syfilis er karakteriseret ved diffust udslæt på overkroppen og ekstremiteterne og kan også vise sig som slimhinde-læsioner på mundtlige og genitale steder⁵. Tertiær syfilis kan medføre mere alvorlige manifestationer, herunder hepatitis, gigt, neurosyfilis, kardiovaskulær syfilis og granulomatøs syfilis hvis den ikke behandles⁴.

4 Kittets indhold

Antal test: Tilstrækkelig til 100 reaktioner (20 µL-reaktioner)

Tabel 1. Sætindhold <i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₁₀₎ (Kat nr. 1121001)			
Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Quantity (Mængde)
Blå	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Masterblanding, der indeholder nødvendige komponenter til qPCR, herunder dNTP'er, DNA-polymerase og buffer	1 x 1 mL
Grøn	VHS Mix, 20x	Blandingen indeholder oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af HSV-1, HSV-2, VZV og <i>T. pallidum</i>	1 x 100 µL
Hvid	Control Mix 1 (Kontrolblanding 1), 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af internt kontrolassay for LC480 II	1 x 100 µL
Rød	Internal Control Cells (Interne kontrolceller) [#]	Interne kontrolceller indeholdende DNA-skabelon til intern kontrol til at monitorere ekstraktions- og amplifikationseffektivitet	1 x 500 µL
Neutral	Nuclease Free Water (Nukleasefrit vand)	Vand af PCR-kvalitet	1 x 1 mL

Skabelonrør skal opbevares adskilt fra oligoblandinger, dvs. i rummet til håndtering af skabeloner eller nukleinsyre

[^] Oligonukleotider er PCR-primerpar, *PlexZyme*[®]-enzymmer og fluorescerensprobe

Tabel 2. Sætindhold <i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₅₅₀₎ (Kat nr. 1123001)			
Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Quantity (Mængde)
Blå	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Masterblanding, der indeholder nødvendige komponenter til qPCR, herunder dNTP'er, DNA-polymerase og buffer	1 x 1 mL
Grøn	VHS Mix, 20x	Blandingen indeholder oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af HSV-1, HSV-2, VZV og <i>T. pallidum</i>	1 x 100 µL
Hvid	Control Mix 2 (Kontrolblanding 2), 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af internt kontrolassay for 7500 Fast	1 x 100 µL
Rød	Internal Control Cells (Interne kontrolceller) [#]	Interne kontrolceller indeholdende DNA-skabelon til intern kontrol til at monitorere ekstraktions- og amplifikationseffektivitet	1 x 500 µL
Neutral	Nuclease Free Water (Nukleasefrit vand)	Vand af PCR-kvalitet	1 x 1 mL

Skabelonrør skal opbevares adskilt fra oligoblandinger, dvs. i rummet til håndtering af skabeloner eller nukleinsyre

[^] Oligonukleotider er PCR-primerpar, *PlexZyme*[®]-enzymmer og fluorescerensprobe

Tabel 3. Sætindhold <i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₇₅₎ (Kat nr. 1125001)			
Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Quantity (Mængde)
Blå	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Masterblanding, der indeholder nødvendige komponenter til qPCR, herunder dNTP'er, DNA-polymerase og buffer	1 x 1 mL
Grøn	VHS Mix, 20x	Blandingen indeholder oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af HSV-1, HSV-2, VZV og <i>T. pallidum</i>	1 x 100 µL
Hvid	Control Mix 3 (Kontrolblanding 3), 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af internt kontrolassay for CFX96 Dx og CFX96 Touch	1 x 100 µL
Rød	Internal Control Cells (Interne kontrolceller) [#]	Interne kontrolceller indeholdende DNA-skabelon til intern kontrol til at monitorere ekstraktions- og amplifikationseffektivitet	1 x 500 µL
Neutral	Nuclease Free Water (Nukleasefrit vand)	Vand af PCR-kvalitet	1 x 1 mL

Skabelonrør skal opbevares adskilt fra oligoblandinger, dvs. i rummet til håndtering af skabeloner eller nukleinsyre

[^] Oligonukleotider er PCR-primerpar, *PlexZyme*[®]-enzymmer og fluorescerensprobe

5 Forsendelse og opbevaring

- Komponenterne i **PlexPCR**[®] VHS-sættene leveres på tøris eller isposer med gel. Efter modtagelse skal alle komponenter opbevares ved -25 °C til -15 °C. Det anbefales, at fryse-/optøningscyklusser begrænses til 15.
- Ved opbevaring under de anbefalede forhold og ved korrekt håndtering bibeholdes sættets aktive egenskaber indtil den udløbsdato, der er angivet på etiketten. Må ikke bruges efter udløbsdatoen.

6 Advarsler og forholdsregler

6.1 Generelt

- Kun til *in vitro* diagnostisk brug.
- Læs denne brugsanvisning omhyggeligt før brug. Følg procedurerne nøje som beskrevet for at sikre troværdigheden af testresultaterne. Enhver afvigelse fra disse procedurer kan påvirke testens resultater.
- Brugere skal være tilstrækkeligt uddannet i brugen af **PlexPCR**[®] VHS-assayet.
- Enhver alvorlig hændelse skal indberettes til fabrikanten og den kompetente myndighed i den medlemsstat, hvor brugeren og/eller patienten er etableret.

6.2 Laboratorie

- Det anbefales at udføre prøveklargøring/-ekstraktion, klargøring af masterblanding, tilsætning og termocykling af prøver i rumligt adskilte områder. Som minimum skal PCR-instrumentet ideelt være i et rum, der er adskilt fra områder, hvor reaktioner klargøres.
- Det anbefales at følge rutinemæssige laboratorieforholdsregler. Brug hensigtsmæssigt personligt beskyttelsesudstyr som f.eks. handsker, beskyttelsesbriller og kittel ved håndtering af reagenser.
- Patogene organismer kan forekomme i klinisk prøvemateriale. Behandl alle biologiske prøver som potentielt smittefarlige, og følg institutionens sikkerhedsprocedurer for håndtering af kemiske og biologiske prøver.
- Følg institutionens procedurer for bortskaffelse af farligt affald ved bortskaffelse af prøver, reagenser og andre potentielt kontaminerede materialer.

6.3 Prøvehåndtering

- Prøver skal indsamles, transporteres og opbevares med brug af standardmetoder for laboratorier eller i overensstemmelse med anvisningerne i indsamlingssættet.

6.4 Assay

- Grundlæggende forholdsregler til at undgå kontaminering af PCR-reaktioner omfatter brug af pipettespidser med sterilt filter, brug af en ny pipettespid til hver pipetteringshandling og adskillelse af arbejdsflow.
- PCR-test kan let blive kontamineret fra tidligere PCR-produkter. Åbn aldrig reaktionsbeholdere efter udførelse af PCR.
- Analysereagenser indeholder IDTE-buffer, som kan forårsage alvorlig øjenirritation. Det anbefales, at brug sker i et godt ventileret område, og at der bæres passende personlige værnemidler såsom handsker, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel ved håndtering af reagenser.

6.5 Sikkerhedsforanstaltninger

- Sikkerhedsdatablade (SDS) kan fås efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

6.6 Assay-plugins: Advarsler/Forholdsregler/Begrænsninger

- SpeedX-software kan kun kontrollere analysen af rådata genereret fra testsættet, når det bruges med dets respektive PCR-instrument. Den kontrollerer ikke forberedelse af prøver, reaktioner, programmering af udstyr eller levering af behandling.
- Brugere skal være tilstrækkeligt trænet i brugen af analysesoftwarens **PlexPCR**[®] VHS, og adgangen bør begrænses til hver enkelt autoriseret bruger
- Det anbefales at implementere brugergodkendelsesadgang og cybersikkerhedskontroller såsom antivirussoftware eller brug af en firewall i IT-systemet og infrastrukturen, der bruger softwaren
- Ved opdagelse af en cybersikkerhedshændelse såsom uautoriseret adgang og ransomware-angreb, kontakt venligst tech@speedx.com.au for yderligere support.

7 Tilhørende produkter og forbrugsartikler

Positivt kontrolmateriale

- Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, katalognr. 95007). Se **afsnit 15.1** for brugsanvisning.

Prøvetagningsenheder

- Regular FLOQSwab™ steril i tørt rør (Copan, kat.nr. 552C)
- Tør pødepind suspenderet i 1 mL UTM-medie (Copan, kat.nr. 350C)

Generelle forbrugsvarer til laboratoriet Handsker og rene kitler

- handsker og rene kitler
- Vortexmixer
- Centrifuge til laboratoriebord til 0,5 mL og 1,5 mL rør
- Mikropipetter
- Sterile aerosol-resistente pipettespidser
- 0,5 mL rør eller 1,5 mL rør (PCR-kvalitet)
- 2,0 mL rør (til forudfortynding af interne kontrolceller)
- Universal Transport Media (UTM) til fremstilling af positiv kontrol HSV/VZV/TP. Se **afsnit 15.1** for detaljer

Til MagNA Pure 96 Instrument

- 1x fosfatbufferet saltvand (PBS)
- MagNA Pure 96 Internal Control Tube (Rør til intern kontrol) (Roche, kat. nr. 06374905001)
- MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit (Roche, kat. nr. 06543588001)
- MagNA Pure 96 System Fluid (ekstern) (Roche, kat. nr. 06640729001)
- MagNA Pure 96 Processing Cartridge (Roche, kat. nr. 06241603001)
- MagNA Pure 96 Pure tip 1000 uL (Roche, kat. nr. 6241620001)
- MagNA Pure 96 Output Plate (Roche, kat. nr. 06241611001)
- MagNA Pure Sealing Foil (Roche, kat. nr. 06241638001)

Til QIAasymphony® SP-instrument

- 1x fosfatbufferet saltvand (PBS)
- Prøveklargøringskassetter, 8 brønde (Qiagen, kat. nr. 997002)
- Overtræk til 8 stænger (Qiagen, kat. nr. 997004)
- Filterspidser, 200 µL og 1500 µL (Qiagen, kat. nr. 990332 og 997024)
- 2 mL rør (bruges til forberedelse af intern kontrol-blanding) (Sarstedt, kat. nr. 72.639 eller 72.694)
- 14 mL polystyrenrør (bruges til forberedelse af intern kontrol-blanding) (Corning, kat. nr. 352051)

For QIAcube HT-instrument

- 1x fosfatbufferet saltvand (PBS)
- QIAamp 96 Virus QIAcube HT kit (Qiagen, kat. nr. 57731)
- Pipetter og engangspipettespidser med aerosolbarrierer (20-1000 µL)
- Isopropanol
- Ethanol (96-100 %)
- QIAcube HT Reagenttrug
- Buffer ATL (Qiagen, kat. nr. 19076)
- QIAGEN Proteinase K (Qiagen, kat. nr. 19131 eller 19133)

Til Applied Biosystems® 7500 Fast

- MicroAmp® Optical 96-well reaction plates (ThermoFisher Scientific, kat. nr. 4316813)
- MicroAmp® Optical Adhesive Film (ThermoFisher Scientific, kat. nr. 4360954)

Til LightCycler® 480 Instrument II

- **PlexPCR**® Colour Compensation (CC) kit (SpeedX, kat. nr. 90001)
- LightCycler® 480 Multiwell Plate 96 (Roche, kat. nr. 04729692001)
- LightCycler® 480 Sealing Foil (Roche, kat. nr. 04729757001)

Til Bio-Rad CFX96™ Dx og CFX96 Touch™ Real-time PCR Detection System

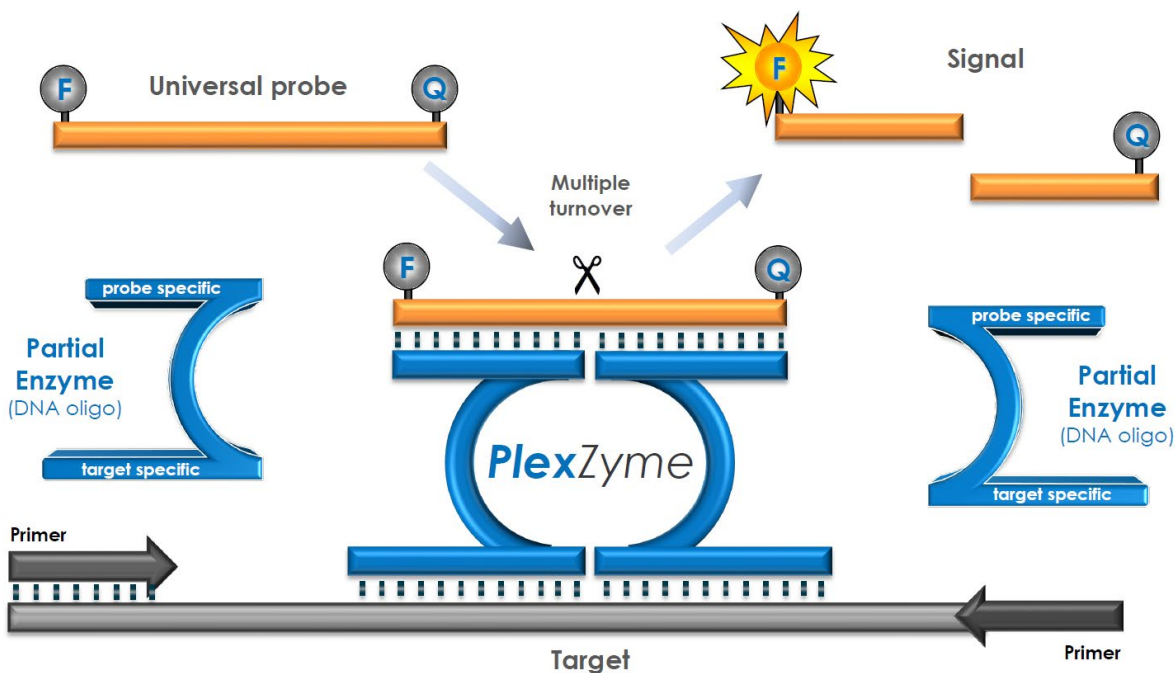
- Multiplate™ 96-well PCR plates (Bio-rad, kat. nr. MLP9601)
- Microseal® PCR Plate sealing Film (kat. nr. MSB1001)

8 Princip for teknologien

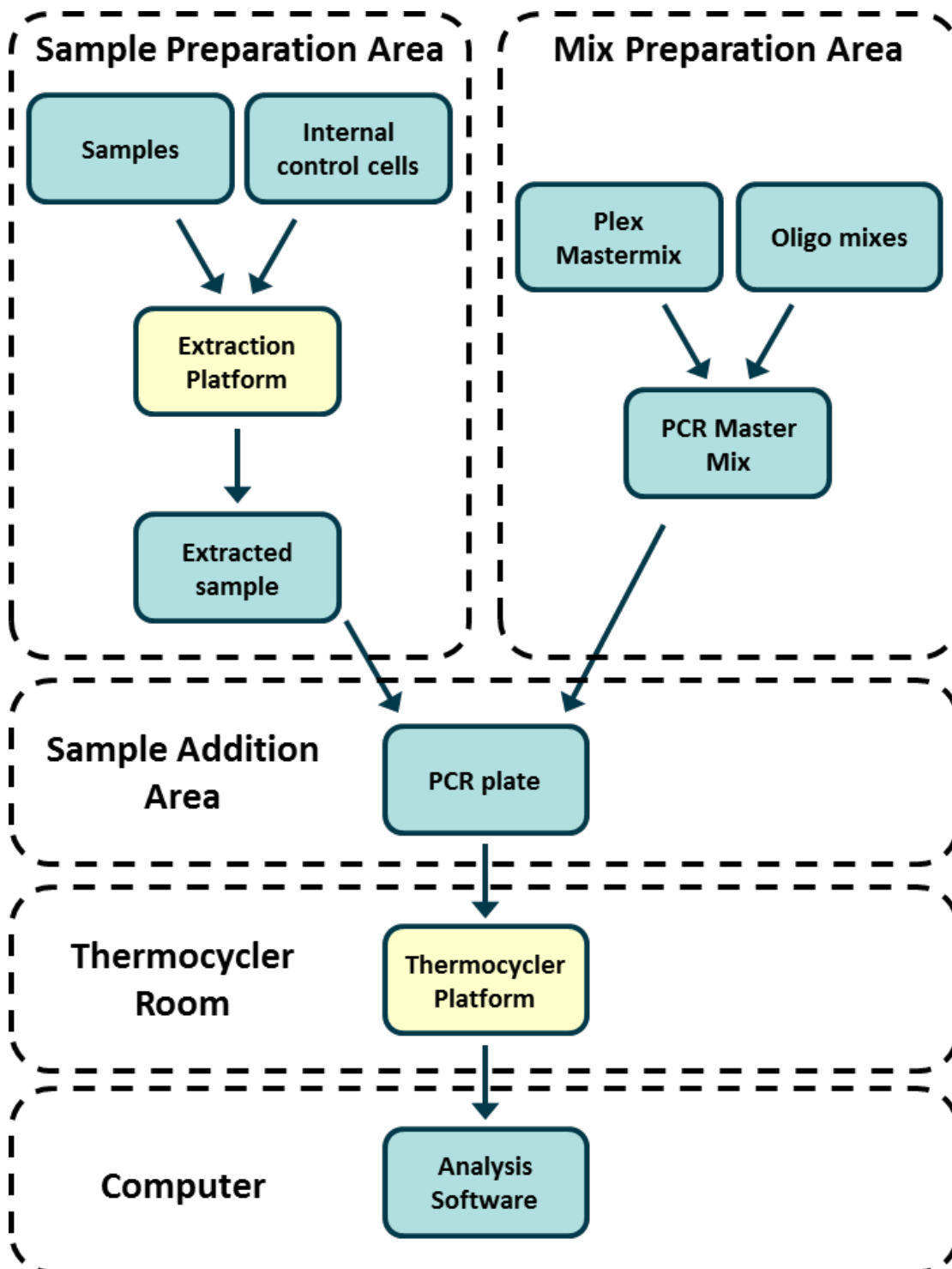
Realtids-PCR (qPCR) kan anvendes til amplifikation og påvisning af specifikke målnukleidsyrer fra patogener. **PlexPCR**[®] er en qPCR-teknologi, der anvender **PlexZyme**[®]-enzymet til at påvise og rapportere det amplificerede produkt ved at generere et fluorescenssignal (Figur 1).

PlexZyme[®]-enzymet er katalytiske DNA-komplekser sammensat af to DNA-oligoer, der omtales som "Partielle enzymer". Hvert partielt enzym har en målspecifik region, en katalytisk kerne og en region til binding af en universalprobe. Når målproduktet er til stede, bindes de to partielle enzymer ved siden af hinanden og danner det aktive **PlexZyme**[®], som har katalytisk aktivitet til at spalte en mærket probe. Spaltning adskiller fluorofor- og dæmpningsfarvestofferne, så der fremkommer et fluorescenssignal, som kan overvåges i realtid. **PlexZyme**[®]-enzymet har yderligere specificitet i forhold til alternative påvisningsteknologier, da der kræves binding af to partielle enzymer for at foretage påvisning. **PlexZyme**[®]-enzymet er desuden et enzym med multiple reaktioner, og der kan spaltes flere prober under hver PCR-cyklus, hvilket resulterer i et stærkt og følsomt signal. **PlexZyme**[®]-assays er yderst følsomme samt specifikke og er meget velegnet til den multiplexede påvisning af patogener.

Figur 1. Skematisk fremstilling af **PlexZyme**[®] påvisning og universel signalering



9 Overblik over proceduren



10 Detaljeret procedure

Bemærk: Navne på medfølgende reagenser angives i kursiv og efterfølges af farven på rørets hætte i parentes.

10.1 Prøveindsamling, transport og opbevaring

Mandlige og kvindelige genitale, ekstragenitale, ikke-genitale, anale/rektale og orale læsionsprøver skal indsamles, transporteres og opbevares ved brug af standard laboratorieteknikker eller i henhold til opsamlingssettets instruktioner.

10.1.1 Godkendte prøvetagningsenheder

Utilstrækkelig eller ukorrekt prøvetagning, opbevaring og transport vil sandsynligvis føre til falske prøvesvar. Undervisning i korrekt prøvetagning er stærkt anbefalet for at sikre prøvens kvalitet og stabilitet.

Prøvetagningsenheder, der er godkendt med **PlexPCR[®] VHS**-sættet, er anført nedenfor med en kort vejledning mht. instruktioner til prøvetagning, -håndtering og -transport fra enhedens producent. Disse instruktioner har ikke til hensigt at erstatte eller træde i stedet for eventuelle instruktioner, som producenten tilvejebringer. Der henvises altid til instruktionerne fra prøvetagningsenhedens producent i forbindelse med korrekte prøvetagningsmetoder.

Før ibrugtagning af en prøvetagningsmetode skal uddannet personale sikre korrekt forståelse af enheden og metoden. Gennemgå som det mindste testbeskrivelsen for følgende: angivelse af prøvetype, tilstrækkelig volumen, procedure(r), nødvendigt prøvetagningsmateriale, klargøring af patient samt korrekte håndterings- og opbevaringsinstruktioner.

10.1.2 Tør podepind til virale transportmedier, indsamling, transport og opbevaring

Tør podning kan anvendes til forskellige prøveopsamlinger foretaget af kliniker eller patient. På grund af variabiliteten henvises til producentens indlægsseddel angående passende prøvetyper og opsamlingsmetoder.

10.1.3 Prøvetagning, transport og opbevaring af FLOQSwab[™] steril i tørt rør (Copan, kat.nr. 552C)

1. Åbn posen fra den side, der er angivet med pilen, og fjern podepinden, og vær forsigtig ikke at røre noget med spidsen af podepinden.
2. Opsaml prøven. I løbet af prøvetagning må podepindens spids kun komme i kontakt med det område, hvorfra prøven skal tages for at reducere risikoen for kontaminering.
3. Behandl podepinden i henhold til intern laboratorieprocedure.
4. Opbevaring anbefales ved 4 °C i maksimalt 24 timer. Langtidsopbevaring skal være ved eller under -80 °C.

10.1.4 Prøvetagning, transport og opbevaring af podepind opslemmet i 1 mL UTM-medie (Copan, kat.nr. 350C)

1. Åbn UTM-sættets pakke, og fjern mediets prøverør samt den indvendige pose med den sterile podepind.
2. Tag den sterile podepind ud af posen, og opsaml den kliniske prøve. Sørg for, at podespidsen kun kommer i kontakt med opsamlingsstedet for at undgå risiko for kontaminering.
3. Efter prøvetagning skrues hættens af prøverøret. Vær omhyggelig med ikke at spilde mediet.
4. Indfør podepinden i prøverøret, indtil brudpunktet er lige ud for prøverørets åbning.
5. Bøj og bryd podepinden ved brudpunktet ved at holde prøverøret væk fra ansigtet, og kassér den overskydende del.
6. Skru hættens tilbage på prøverøret, og forsegl det hermetisk.
7. Prøven i UTM-mediet skal behandles inden for 48 timer efter indsamling, og prøveglasset opbevares ved 4 °C i maksimalt 24 timer. Langtidsopbevaring skal være ved eller under -80 °C.
8. Før behandling, skal den ophvirvles i 20 sekunder for at fremme prøvens frigørelse fra podepinden og for at homogenisere mediet.

10.2 Prøvebehandling

PlexPCR[®] VHS-sættet er valideret til de anførte ekstraktionsinstrumenter **Tabel 4**.

Se **afsnit 10.3** for anvisninger om brug med Internal Control (den interne kontrol).

Tabel 4. Validerede ekstraktionsprotokoller				
Instrument	Ekstraktionssæt	Prøvevolumen	Protokol	Elueringsvolumen
QIASymphony SP ^a	DSP Virus/Pathogen Minikit	200 µL	Cellfree200_V7_DSP	85 µL
QIAcube HT ^b	QIAamp [®] 96 Virus QIAcube [®] HT Kit	200 µL	QIAamp 96 Virus QIAcube HT.QSP	60 µL
MagNA Pure 96 ^c	MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit	200 µL	Pathogen Universal 200	100 µL

^a 10.3.1 forklarer, hvordan den interne kontrol anvendes på QIASymphony SP

^b 10.3.2 forklarer, hvordan den interne kontrol anvendes på QIAcube HT

^c Se i 10.3.3, hvordan intern kontrol anvendes med MagNA Pure 96 Det flydende medie fra den eluerede Positive Control HSV/VZV/TP-podning er blevet verificeret for nukleinsyreextraktion med denne metode. Se afsnit 15.1 for detaljer.

10.3 Internal Control (intern kontrol) (IC)

Sættet indeholder en intern kontrol til at monitorere ekstraktionseffektivitet og qPCR-hæmning. Det interne kontrolassay leveres i form af en *Control Mix* (kontrolblanding) (**HVID**) og *Internal Control Cells* (interne kontrolceller) (**RØD**). *Control Mix* (kontrolblandingen) tilsættes PCR Master Mix (PCR-masterblandingen) (**Tabel 10**). De *Internal Control Cells* (interne kontrolceller) indeholder DNA-skabelonen for intern kontrol. De *Internal Control Cells* (interne kontrolceller) fortyndes og behandles som angivet nedenfor for specifikke ekstraktionsinstrumenter. Derfor co-ekstraheres DNA-skabelonen for intern kontrol med prøven og co-amplificeres i reaktionen.

10.3.1 Internal Control (intern kontrol) på QIASymphony[®] SP

For yderligere oplysninger henvises til "QIASymphony DSP Virus/Pathogen Instructions for Use (Handbook)". Den interne kontrol-carrier RNA-buffer AVE-blanding skal klargøres umiddelbart før start på kørslen. Ekstraktionen skal udføres ifølge producentens anvisninger.

Fortynd de *Internal Control Cells* (interne kontrolceller) (**RØD**) 1:50 i 1x PBS (**Tabel 5**). Juster volumen efter behov med brug af samme fortyndingsfaktor i forhold til det ønskede antal prøver.

Bemærk: Fortyndede Internal Control Cells (interne kontrolceller) må IKKE opbevares

Tabel 5. Fortynding af Internal Control Cells (interne kontrolceller) til QIASymphony SP (fortynding 1:50)		
Internal Control Cells (interne kontrolceller) (RØD) (µL)	1x PBS (µL)	Samlet volumen (µL)
40	1960	2000

De fortyndede *Internal Control Cells* (interne kontrolceller) bruges derefter til at klargøre en intern kontrol-carrier RNA-Buffer AVE-blanding som vist i **Table 6** nedenfor. Juster volumen efter behov med brug af den samme fortyndingsfaktor ud fra det ønskede antal prøver (se vejledningen til ekstraktionssættet med hensyn til minimumvolumen for det påkrævede antal prøver).

Rørene med intern kontrol-carrier RNA-buffer AVE-blandingen placeres i en rørholder og indføres i åbning A i prøveskuffen i QIASymphony[®] SP. 120 µL (standard) af blandingen føjes til hver prøve.

Tabel 6. Klargøring af Internal Control (intern kontrol)-carrier RNA-buffer AVE-blanding til QIASymphony					
Rørtype	Antal prøver	Volumen af fortyndede IC-celler (µL)	Stock carrier RNA (µL)	Buffer AVE (µL)	Samlet volumen (µL)
-	1	10	3	107	120
2 mL	1 + dødvolumen [^]	40	12	428	480
14	1 + dødvolumen [#]	60	18	642	720

[^] 2 mL rør kræver 3 ekstra prøver (360 µL) af hensyn til dødvolumen.

[#] 14 mL rør kræver 5 ekstra prøver (600 µL) af hensyn til dødvolumen.

10.3.2 Internal Control (intern kontrol) på QIAcube HT

Fortynd de *Internal Control Cells* (interne kontrolceller) (**RØD**) 1:10 i 1x PBS (brug **Tabel 7** som eksempel). Juster volumen efter behov med brug af samme fortyndingsfaktor i forhold til det ønskede antal prøver.

Bemærk: Fortyndede *Internal Control Cells* (interne kontrolceller) må **IKKE** opbevares

Tabel 7. Fortynding af Internal Control Cells (interne kontrolceller) til Qiacube HT (1:10 fortynding)		
Internal Control Cells (interne kontrolceller) (RØD) (µL)	1x PBS (µL)	Samlet volumen (µL)
30	270	300

De fortyndede *Internal Control Cells* (interne kontrolceller) bruges derefter til at forberede blandingen af Buffer ACL, carrier RNA og Internal Control Cells (interne kontrolceller). De krævede volumener pr. prøve er vist i "QIAcube HT Brugervejledning". Brug **Tabel 8** som eksempel.

QIAcube HT Software beregner reagensvolumenerne og antallet af spidser, der kræves for at gennemføre protokollen. Disse værdier vises med arbejdsbordslayoutet i QIAcube HT-arbejdsområdet. For yderligere oplysninger henvises til "QIAcube HT Brugervejledning". ACL-blandingen skal klargøres og tilføjes det relevante trug umiddelbart før kørslen. Ekstraktionen skal udføres ifølge producentens anvisninger.

Tabel 8. Klargøring af Buffer ACL, carrier RNA, og Internal Control (intern kontrol)			
Antal prøver	Volumen af fortyndede IC-celler (µL)	Stock carrier RNA (µL)	Buffer ACL (mL)
24	280	140	4,5

Åbn den relevante QIAcube HT-kørselsfil svarende til QIAamp 96 Virus QIAcube HT.QSP-protokollen, og klik på kørselsknappen for at starte kørslen.

10.3.3 Internal Control (intern kontrol) på MagNA Pure 96

Fortynd de *Internal Control Cells* (interne kontrolceller) (**RØD**) 1:200 i 1x PBS (**Tabel 9**). Juster volumen efter behov ved hjælp af den samme fortyndingsfaktor (se vejledningen til ekstraktionssættet med hensyn til minimumvolumen for det påkrævede antal prøver). De fortyndede interne kontrolceller sættes i Internal Control Tube (den interne kontrolslange) på MagNA Pure 96, og der tilsættes automatisk 20 µL til hver prøve (standard).

Bemærk: Fortyndede Internal Control Cells (interne kontrolceller) må **IKKE** opbevares

Tabel 9. Fortynding af Internal Control Cells (interne kontrolceller) til MagNA Pure 96 (1 ud af 200 fortynding)			
Internal Control Cells (interne kontrolceller) (RØD) (µL)	1x PBS (µL)	Samlet volumen (µL)	Volumen tilsat prøven (µL)
18	3582	3600	20

10.4 **Klargøring af realtids-PCR**

Bemærk: Før brug af reagenserne skal de optøs fuldstændig og blandes grundigt ved kortvarig brug af vortexmixer.

Se **Tabel 1 – Tabel 3** for en beskrivelse af sættets indhold.

10.4.1 Klargøring af masterblanding

Til et 20 µL reaktionsvolumen skal der bruges 15 µL masterblanding og 5 µL ekstrakt. Klargør masterblandingen som angivet i **Tabel 10**.

- Pipetter masterblandingen over i PCR-pladen, og tilsæt derefter den ekstraherede prøve til reaktionen.
- Der skal udføres positive og negative kontroller på hver plade.
- Forsegel pladen, centrifuger den og overfør den til termocykler.

Tabel 10. Masterblanding		
Reagens	Koncentration	Volumen pr. 20 µL reaktion (µL)
Nuclease Free Water (Nukleasefrit vand) (neutral)	Ikke relevant	3,0
Plex Mastermix (BLÅ)	2x	10,0
VHS mix, 20x (GRØN)	20x	1,0
Control Mix (kontrolblanding) [‡] (HVID)	20x	1,0
Samlet volumen (µL)		15,0
Tilsæt 5 µL prøve, så det afsluttende volumen bliver 20 µL		

[‡] Kontrolblandinger er specifikke for qPCR-instrumenter. Se **afsnit 4** for den medfølgende kontrolblanding

11 Programmering og analyse

Oplysninger om programmering og analyse er beskrevet i **Afsnit 19 – Afsnit 21**.

PlexPCR[®] VHS-sættet bruger fem kanaler til påvisning af HSV-1, HSV-2, VZV og *T. pallidum* og Internal Control (intern kontrol) (**Tabel 11**).

Tabel 11. Kanaler til PlexPCR [®] VHS-mål					
qPCR-instrument	HSV-2	HSV-1	VZV	Intern Control (intern kontrol)	<i>T. pallidum</i>
LC480 II	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660
7500 Fast	FAM	JOE	Texas Red	TAMRA	Cy5
CFX96 Dx og CFX96 Touch	FAM	HEX	Texas Red	Quasar 705	Cy5

12 Fortolkning af resultater

Datafortolkning kræver **PlexPCR**[®] VHS. **PlexPCR**[®] VHS-analysesoftwaren automatiserer datafortolkningen af amplifikationsresultater og gør arbejdsflowet mere effektivt. Anvisninger for brug af analysesoftwaren er beskrevet i **afsnit 22**.

Se **Tabel 12** for den relevante analysesoftware til hvert realtids-PCR-instrument. Analysesoftwaren kan leveres efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

Tabel 12. Analysis software (analysesoftware)		
Kat. nr.	Analysis software (analysesoftware)*	qPCR-instrument
99005	PlexPCR [®] VHS (LC480)	LC480 II
99004	PlexPCR [®] VHS (7500)	7500 Fast
99006	PlexPCR [®] VHS (CFX)	CFX96 Dx og CFX96 Touch

* Se webstedet <https://www.plexpcr.com/plexpcr-vhs/resources> for at sikre, at du anvender den seneste version af analysesoftwaren.

13 Begrænsninger

- **PlexPCR**[®] VHS-assayet må kun udføres af personale, der er uddannet i proceduren, og skal udføres i overensstemmelse med denne brugsanvisning.
- Pålidelige resultater afhænger af adækvat indsamling, opbevaring, transport og behandling af prøverne. Manglende overholdelse af de korrekte procedurer i ethvert af disse trin kan føre til fejlagtige resultater.
- **PlexPCR**[®] VHS-assayet er et kvalitativt assay, og leverer ikke kvantitative værdier eller oplysninger om belastning af organismen.
- Resultaterne fra testen skal ses i sammenhæng med de kliniske, epidemiologiske data, laboratoriedata og andre data, der er tilgængelige for klinikerne.
- Negative resultater udelukker ikke muligheden for infektion på grund af forkert prøveindsamling, tekniske fejl, tilstedeværelse af inhibitorer, ombytning af prøver eller lave antal organismer i den kliniske prøve.
- Falsk positive resultater kan skyldes krydskontaminering af målorganismer, deres nukleinsyrer eller amplificeret produkt.
- **PlexPCR**[®] VHS-sættet er ikke beregnet til brug med cerebrospinalvæske eller til brug i prænatal screening.

14 Kvalitetskontrol

PlexPCR[®] VHS-sættet indeholder en intern kontrol til at monitorere ekstraktionseffektivitet og qPCR-hæmning (**afsnit 10.3**).

Den Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat.nr. 95007) anbefales som en ekstern positiv kontrol. Eksterne positive kontroller bruges til rutinemæssig kvalitetskontroltestning for at hjælpe brugeren med at opdage uventede forhold, der kan føre til testfejl. De detaljerede instruktioner findes i **afsnit 15.1** for den Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, katalognr. 95007). Det anbefales at anvende en kendt negativ prøve som negativ kontrol.

15 Instruktioner for positiv kontrol HSV/VZV/TP

Den Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, katalognr. 95007) er den anbefalede eksterne positive kontrol, der er blevet valideret til brug som en ekstern positiv kontrol med **PlexPCR**[®] VHS-kittet. Eksterne positive kontroller bruges til rutinemæssig kvalitetskontroltestning for at hjælpe brugeren med at opdage uventede forhold, der kan føre til testfejl.

Den Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, katalognr. 95007) skal opbevares ved 2 °C til 30 °C indtil brug. Når den positive kontrol HSV/VZV/TP (SpeedX, kat.nr. 95007) er åbnet, må den ikke genbruges.

Se indlægssedlen til den Positive Control HSV/VZV/TP for yderligere information om opbevaring og begrænsninger.

15.1 Brugsanvisning

Klargør SpeedX Positive Control HSV/VZV/TP i Universal Transport Medium (UTM) ved at nedsænke podepindens spids i 3 mL UTM og derefter knække podepinden ved brudpunktet, inden skruelåget skrues på, og der inkuberes ved stuetemperatur i et minut. Vortex hætteglasset med spidsen nedsænket i 45 sekunder (fjern ikke spidsen).

Det flydende medie fra den eluerede Positive Control HSV/VZV/TP-podepind er blevet verificeret for nukleinsyreextraktion med MagNA Pure 96. Behandl det flydende medie fra den eluerede podning med Positive Control HSV/VZV/TP til nukleinsyreextraktionstrinnet med MagNA Pure 96 som beskrevet i **afsnit 10.2** og **afsnit 10.3.3**.

Forbered qPCR-reaktioner som beskrevet i **afsnit 10.4**, og anvend det positive kontrolmateriale som prøve.

Når PC'en er klargjort i 3 mL UTM, kan den opdeles i mængder til engangsbrug (anbefalet mængde pr. portion er 210 µL) og opbevares ved -25 °C til -15 °C i 30 dage.

Når folieposen er åbnet, skal den positive kontrolvatpind til HSV/VZV/TP anvendes straks.

16 Ydeevnekaraktistika

16.1 Klinisk præstation

16.1.1 Klinisk studie 1

Et retrospektivt klinisk studie blev udført på Public Health Laboratory (PHL), Bristol, England. Der blev indsamlet prøver fra januar til marts 2017, og baseret på de kliniske laboratorieresultater blev 222 positive og 205 negative podningsprøver indsamlet og taget med i studiet. De 222 prøver bestod af 161 genitalpodninger, 14 anal-/rektalpodninger, 46 ikke-genitale podninger og 1 podning uden specificeret sted. Prøver blev ekstraheret vha. QIASymphony SP (Qiagen)-ekstraktionsplatformen vha. DSP Virus/Patogen Minikit (Qiagen), og Cell free 200-protokollen. 200 µL af prøven blev ekstraheret, og den endelige elueringsvolumen var 85 µL. Prøverne blev testet i 20 µL reaktioner på 7500 Fast-instrumenterne med **PlexPCR**[®] VHS₍₅₅₀₎-sættet.

Præstationen af **PlexPCR**[®] VHS-sættet blev sammenlignet med kliniske laboratorieresultater fra internt realtids-PCR på PHL Bristol, hvor det interne resultat blev taget som det sande resultat. Sensitiviteten og specificiteten af **PlexPCR**[®] VHS-sættet er vist i **Tabel 13**. Analyse af resultater i henhold til prøvetype er vist i **Tabel 14**.

Tabel 13. Sammenligning af PlexPCR [®] VHS ₍₅₅₀₎ -sæt og PHL interne realtids-PCR-assays									
		PHL interne realtids-PCR-assays							
		HSV-1-resultat		HSV-2-resultat		VZV-resultat		<i>T. pallidum</i> -resultat	
		Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
PlexPCR [®] VHS ₍₅₅₀₎	Positiv	83	1	70	1	47	1	21	0
	Negativ	2	341	0	356	0	379	0	406
I alt		85	342	70	357	47	380	21	406
Følsomhed		97,7% (95 % CI 91,8-99,7 %)		100,0% (95 % CI 94,9-100,0%)		100,0% (95 % CI 92,5-100,0%)		100,0% (95 % CI 83,9-100%)	
Specificitet		99,7% (95 % CI 98,4-100,0%)		99,7% (95 % CI 98,5-100,0%)		99,7% (95 % CI 98,5-100,0%)		100,0% (95 % CI 99,1-100,0%)	

95 % CI – 95 % konfidensinterval

Tabel 14. Klinisk resultatanalyse i henhold til prøvetype					
Prøve	HSV-1	HSV-2	VZV	<i>T. pallidum</i>	Negativ
Genital	73/75	66/66	0/0	21/21	190/190
Anal/rektal	10/10	3/3	1/1	0/0	12/13
Ikke-genital	0/0	0/0	46/46	0/0	0/0

16.1.2 Klinisk studie 2

Et prospektivt-retrospektivt klinisk studie blev udført på Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory (VIDRL), Melbourne, Australien. Der blev indsamlet prøver fra januar til april 2018, og baseret på de kliniske laboratorieresultater blev 156 positive og 54 negative podningsprøver indsamlet og taget med i studiet. De 210 prøver bestod af 52 anal-/rektalpodninger, 131 genitalpodninger, 2 genital-/anal-/rektalpodninger, 1 genital/ikke-genital podning, 1 genital/ikke-genital/oral podning, 3 genital-/oralpodninger, 9 ikke-genitale podninger, 10 oralpodninger og 1 podning uden specificeret sted. Prøverne blev ekstraheret vha. QIAcube HT (Qiagen) ekstraktionsplatformen ved hjælp af QIAamp 96 Virus QIAcube HT Kit og QIAamp 96 Virus QIAcube HT.QSP-protokollen. 200 µL af prøven blev ekstraheret, og den endelige elueringsvolumen var 60 µL. Prøverne blev testet i 20 µL reaktioner på LC480 II-instrumentet med **PlexPCR**[®] VHS₍₆₁₀₎-sættet.

Præstationen af **PlexPCR**[®] VHS-sættet blev sammenlignet med kliniske laboratorieresultater fra internt realtids-PCR på VIDRL, hvor det interne resultat blev taget som det sande resultat. Sensitiviteten og specificiteten af **PlexPCR**[®] VHS-sættet er vist i **Tabel 15**. Analyse af resultater i henhold til prøvetype er vist i **Tabel 16**.

Tabel 15. Sammenligning af PlexPCR® VHS₍₆₁₀₎-sæt og VIDRL interne realtids-PCR-assays

		VIDRL interne realtids-PCR-assays							
		HSV-1-resultat		HSV-2-resultat		VZV-resultat		<i>T. pallidum</i> -resultat	
		Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
PlexPCR® VHS ₍₆₁₀₎	Positiv	56	2	48	2	2	0	50	0
	Negativ	0	152	2	158	0	208	0	160
I alt		56	154	50	160	2	208	50	160
Følsomhed		100,0% (95 % CI 93,6-100,0%)		96,0% (95 % CI 86,3-99,5%)		100,0% (95 % CI 15,8-100,0%)		100,0% (95 % CI 92,9-100,0%)	
Specifitet		98,7% (95 % CI 95,4-99,8%)		98,8% (95 % CI 95,6-99,8%)		100,0% (95 % CI 98,2-100,0%)		100,0% (95 % CI 97,7-100,0%)	

95 % CI – 95 % konfidensinterval

Tabel 16. Klinisk resultatanalyse i henhold til prøvetype

Prøve	HSV-1	HSV-2	VZV	<i>T. pallidum</i>	Negativ
Anal/rektal	16/16	13/13	0/0	9/9	15/15
Genital	34/34	31/32	1/1	31/31	33/34
Genital/anal/rektal	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0
Genital/ikke-genital	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Genital/ikke-genital/oral	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0
Genital/oral	0/0	0/0	0/0	3/3	0/0
Ikke-genital	2/2	3/3	0/0	1/1	3/3
Oral	4/4	0/1	0/0	3/3	2/2

16.2 Analytisk præstation

16.2.1 Reproducerbarhed og repeterbarhed

Reproducerbarheden og repeterbarheden af PlexPCR® VHS-sættet blev vurderet vha. syntetisk skabelon for HSV-1, HSV-2, VZV og *T. pallidum* ved 3x påvisningsgrænsen af kopier pr. reaktion. Eksperimenterne udførtes på 7500 Fast.

For at bestemme lot-til-lot-variabilitet blev to lot testet ved kørsel på én maskine udført af én operatør (Tabel 17). De to lot viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på 1,56-1,94 %.

Tabel 17. Lot-til-lot variabilitet				
	Middel Cq	STAFV	% CV	Antal prøver
HSV-1 12 kopier	26,0	0,50	1,94	12/12
HSV-2 36 kopier	25,0	0,43	1,71	12/12
VZV 48 kopier	24,0	0,37	1,56	12/12
<i>T. pallidum</i> 24 kopier	25,2	0,47	1,87	12/12

For at bestemme variabiliteten fra dag til dag udførtes der test over tre dage af én operatør på den samme maskine (Tabel 18). De tre kørsler viste god reproducerbarhed mellem forskellige dage med en variationskoefficient (% CV) på 1,45-2,33 %.

Tabel 18. Variabilitet dage imellem				
	Middel Cq	STAFV	% CV	Antal prøver
HSV-1 12 kopier	26,2	0,60	2,29	18/18
HSV-2 36 kopier	24,7	0,36	1,45	18/18
VZV 48 kopier	24,1	0,40	1,64	18/18
<i>T. pallidum</i> 24 kopier	25,1	0,58	2,33	18/18

For at bestemme variabiliteten kørsler imellem sammenlignedes tre qPCR-kørsler udført på samme dag af den samme operatør (Tabel 19). De tre kørsler viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient på 0,88-2,05 %.

Tabel 19. Variabilitet mellem kørsler				
	Middel Cq	STAFV	% CV	Antal prøver
HSV-1 12 kopier	26,5	0,50	1,89	18/18
HSV-2 36 kopier	24,7	0,22	0,88	18/18
VZV 48 kopier	24,1	0,37	1,53	18/18
<i>T. pallidum</i> 24 kopier	25,1	0,51	2,05	18/18

For at bestemme variabilitet mellem operatører sammenlignedes to kørsler fra to operatører (Tabel 20). De to kørsler fra forskellige operatører viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på 0,96-2,73 %.

Tabel 20. Variabilitet mellem operatører				
	Middel Cq	STAFV	% CV	Antal prøver
HSV-1 12 kopier	25,9	0,71	2,73	12/12
HSV-2 36 kopier	24,8	0,24	0,96	12/12
VZV 48 kopier	24,1	0,45	1,86	12/12
<i>T. pallidum</i> 24 kopier	25,2	0,30	1,18	12/12

For at bestemme variabiliteten instrumenter imellem sammenlignedes to kørsler fra to maskiner udført af den samme operatør (Tabel 21). Kørslerne fra forskellige instrumenter viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på 1,27-3,49 %.

Tabel 21. Variabilitet mellem instrumenter				
	Middel Cq	STAFV	% CV	Antal prøver
HSV-1 12 kopier	26,1	0,91	3,49	12/12
HSV-2 36 kopier	24,9	0,32	1,27	12/12
VZV 48 kopier	24,1	0,41	1,69	12/12
<i>T. pallidum</i> 24 kopier	25,0	0,38	1,53	12/12

For at bestemme variabilitet inden for kørsler sammenlignedes tre eksperimenter, der var sat op separat af den samme operatør, som kørte hvert mål på den samme plade (Tabel 22). De tre eksperimenter viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient på 1,28-2,54 %.

Tabel 22. Variabilitet inden for kørsler				
	Middel Cq	STAFV	% CV	Antal prøver
HSV-1 12 kopier	25,9	0,66	2,54	18/18
HSV-2 36 kopier	24,4	0,31	1,28	18/18
VZV 48 kopier	24,3	0,42	1,74	18/18
<i>T. pallidum</i> 24 kopier	25,0	0,37	1,47	18/18

16.2.2 Analytisk følsomhed

Den analytiske følsomhed af **PlexPCR**[®] VHS-sættet på 7500 Fast blev bestemt ved at køre begrænsede fortyndingsserier med syntetisk skabelon for HSV-1, HSV-2, VZV og *T. pallidum*. Følsomheden for hvert mål bestemtes som antallet af kopier pr. reaktion med ≥ 95 % påvisning som vist i **Tabel 23**.

Tabel 23. Analytisk følsomhed	
	Analytisk følsomhed (kopier/reaktion)
HSV-1	4
HSV-2	12
VZV	20
<i>T. pallidum</i>	8

16.2.3 Analytisk specificitet

PlexPCR[®] VHS-sættet blev designet til at være specifikt for målorganismerne ved at kontrollere for homologi med ikke-målorganismer i offentlige sekvensdatabaser. Specificitetstest for udvalgte organismer viste ikke krydsreaktivitet (**Tabel 24**). Eksperimenterne udførtes på 7500 Fast.

Tabel 24. Analytisk specificitet		
Organisme	Kilde	Testkoncentration (kopier pr. reaktion)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , stamme FA 1090	ATCC	10 ⁶
<i>Mycoplasma hominis</i> , stamme ZK-CU2	Vircell	10 ⁴
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Vircell	10 ⁴
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGV, stamme 434	Vircell	10 ⁴
<i>Ureaplasma parvum</i>	Klinisk isolat	10 ⁴
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Klinisk isolat	10 ⁴
<i>Haemophilus influenzae</i> , stamme Rd KW20	ATCC	10 ⁶
<i>Neisseria meningitidis</i> , stamme MC58	ATCC	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i> , stamme V583	ATCC	10 ⁶
<i>Escherichia coli</i> , stamme Crooks	ATCC	10 ⁶
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , stamme MGH78578	ATCC	10 ⁶
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , stamme PAO1-LAC	ATCC	10 ⁶
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> , stamme CM-1	Vircell	10 ⁴
<i>Streptococcus pneumoniae</i> , stamme R6	ATCC	10 ⁶
<i>Haemophilus ducreyi</i> , stamme 35000 HP	ATCC	10 ⁶
Humant herpesvirus 6	Vircell	10 ⁴
Epstein-Barr-virus (Humant herpesvirus 4)	Vircell	10 ⁴
Cytomegalovirus (Humant herpesvirus 5)	Vircell	10 ⁴

16.2.4 Kompetitiv interferens

For at undersøge kompetitiv interferens blev målpåvisningen af **PlexPCR**[®] VHS-sættet testet i tilrettelagte prøver, der simulerede co-infektioner. Påvisning af syntetisk skabelon for HSV-1, HSV-2, VZV og *T. pallidum* ved lave koncentrationer (3x påvisningsgrænsen af kopier pr. reaktion) blev sammenlignet med påvisning i blandede prøver opspædet med høj koncentration af et andet mål. Eksperimenterne udførtes på 7500 Fast. Alle mål blev påvist korrekt, og der blev ikke konstateret kompetitiv interferens (**Tabel 25**).

Tabel 25. Kompetitiv interferens							
Lavkoncentrationsmål		Kompetitiv interferens (høj koncentration)		Antal påviste prøver			
Mål	Koncentration (kopier pr. reaktion)	Mål	Koncentration (kopier pr. reaktion)	HSV-1	HSV-2	VZV	<i>T. pallidum</i>
HSV-1	12	--	--	3/3	0/3	0/3	0/3
		HSV-2	10.000	3/3	3/3	0/3	0/3
		VZV	10.000	3/3	0/3	3/3	0/3
		<i>T. pallidum</i>	10.000	3/3	0/3	0/3	3/3
HSV-2	36	--	--	0/3	3/3	0/3	0/3
		HSV-1	10.000	3/3	3/3	0/3	0/3
		VZV	10.000	0/3	3/3	3/3	0/3
		<i>T. pallidum</i>	10.000	0/3	3/3	0/3	3/3
VZV	48	--	--	0/3	0/3	3/3	0/3
		HSV-1	10.000	3/3	0/3	3/3	0/3
		HSV-2	10.000	0/3	3/3	3/3	0/3
		<i>T. pallidum</i>	10.000	0/3	0/3	3/3	3/3
<i>T. pallidum</i>	24	--	--	0/3	0/3	0/3	3/3
		HSV-1	10.000	3/3	0/3	0/3	3/3
		HSV-2	10.000	0/3	3/3	0/3	3/3
		VZV	10.000	0/3	0/3	3/3	3/3

16.2.5 Potentielt interfererende stoffer

Effekten af potentielt interfererende stoffer på **PlexPCR**[®] VHS-sættet vurderedes i tilrettelagte prøver ud fra præstationen af Internal Control (den interne kontrol), som monitorerer ekstraktion og qPCR-hæmning. Tre stoffer blev føjet til negative prøver (kun PBS) ekstraheret med *Internal Control Cells* (Interne kontrolceller). Der observeredes et mindre skift ($\Delta Cq < 0,5$) i Internal Control (intern kontrol)-signalet ved tilstedeværelse af stofferne, hvilket ikke påvirkede påvisningen (**Tabel 26**).

Tabel 26. Potentielt interfererende stoffer					
Stof	Koncentration	IC Middel Cq	STAFV	ΔCq	Antal påviste prøver
--	--	26,6	0,78	--	4/4
Albumin	10 mg/mL	26,9	0,31	0,31	3/3
Fuldblod	10 % (v/v)	27,0	0,14	0,38	3/3
EDTA	3 mM	27,0	0,35	0,43	3/3

17 Kundesupport og teknisk support

Kontakt teknisk support for spørgsmål vedrørende opsætning af reaktioner, cyklingsforhold og andre forespørgsler.

Tlf.: +61 2 9209 4170, E-mail: tech@speedx.com.au

18 Referencer

1. Fan F, Day S, Lu X, Tang Y. Laboratory diagnosis of HSV and varicella zoster virus infections. *Future medicine*. 2014, 9(8):721-731.
2. Garland S, Eundem F, Steben M. Genital herpes. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2014, 28:1098-1110.
3. Heaton P, Espy M, Binnicker M. Evaluation of 2 multiplex real-time PCR assays for the detection of HSV-1/2 and Varicella zoster virus directly from clinical samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2015, 81:168-170.
4. Klein J, McLaud M, Rogers D. Syphilis on the rise: diagnosis, treatment, and prevention. *The Journal for Nurse Practitioners*. 2015, 11(1):49-55.
5. Smith N, Dhillon S, Cotter J, Ahmed Z. Syphilis: an atypical case of sepsis and multiple anogenital lesions in secondary syphilis. *Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives*. 2016, 6:32495.

19 Bilag 1: LightCycler® 480 Instrument II

Følgende oplysninger er baseret på *LightCycler 480 Software (version 1.5)*.

PlexPCR® VHS₍₆₁₀₎-sættet indeholder farver til LightCycler® 480 Instrument II. **PlexPCR® Colour Compensation** (farvekompensation)-sættet (kat. nr. 90001) skal køres og anvendes til LC480 II-analyse (se **afsnit 19.2**). Dette sæt kan leveres efter anmodning.

19.1 Programmering af LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II)

Detection Format (påvisningsformat)

Opret et brugerdefineret **Detection Format (påvisningsformat)**

Open Tools (åbn værktøjer) > **Detection Formats (påvisningsformater)**

Opret et nyt påvisningsformat og navngiv det "SpeedX PlexPCR" (kan oprettes under genereringen af SpeedX Colour Compensation (farvekompensation)-fil) (se **Figur 2**).

For **Filter Combination Selection (Valg af filterkombination)** skal du vælge følgende (Excitation-Emission): som vist i **Tabel 27**:

Tabel 27. Filterkombinationer [^]						
LC480 II	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

[^] Disse filterkombinationer er standardnavnene for kanalerne

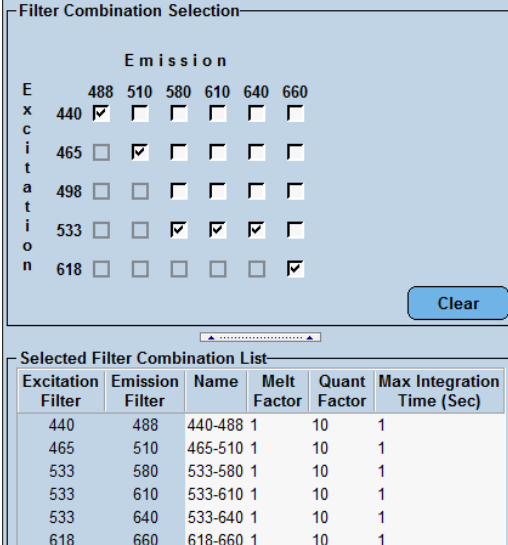
Sæt **Selected Filter Combination List (listen over valgte filterkombinationer)** for alle kanaler til:

Melt Factor (smeltefaktor): 1

Quant Factor (kvantefaktor): 10

Max Integration Time (sec) (maks. integrationstid (sek.)): 1

Figur 2. Brugertilpasset SpeedX-påvisningsformat



Selected Filter Combination List						
Excitation Filter	Emission Filter	Name	Melt Factor	Quant Factor	Max Integration Time (Sec)	
440	488	440-488	1	10	1	
465	510	465-510	1	10	1	
533	580	533-580	1	10	1	
533	610	533-610	1	10	1	
533	640	533-640	1	10	1	
618	660	618-660	1	10	1	

Instrument Settings (instrumentindstillinger)

Opret et brugerdefineret **Detection Format (påvisningsformat)**

Open Tools (åbn værktøjer) > **Instruments (instrumenter)**

For **Instrument Settings (instrumentindstillinger)** > vælges **Barcode Enabled (stregkode aktiveret)**

Experiment setup (Opsætning af eksperiment)

Vælg **New Experiment**(Nyt eksperiment)

I fanen **Run Protocol** (Kør protokol)

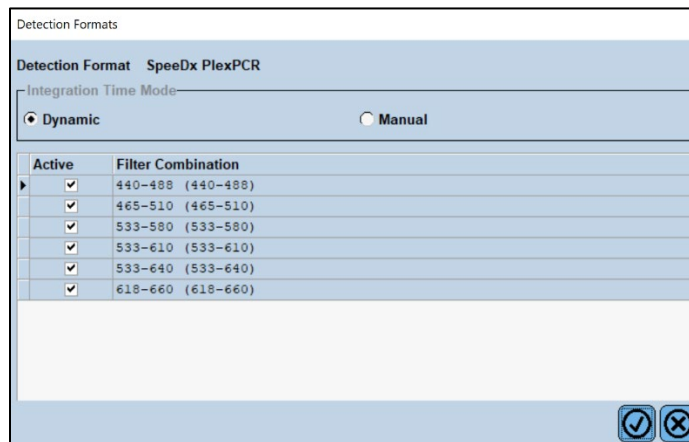
Til **Detection Format** (Detektionsformat) skal du vælge den brugerdefinerede 'SpeedX PlexPCR' (Figur 3)

Vælg **Customize** (Tilpas) >

Vælg **Integration Time Mode** (Integrationstidstilstand) > **Dynamic** (Dynamisk)

Vælg alle aktive **Filter Combinations** (Filterkombinationer) som vist i **Figur 3**.

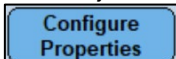
Figur 3. Tilpas detektionsformat



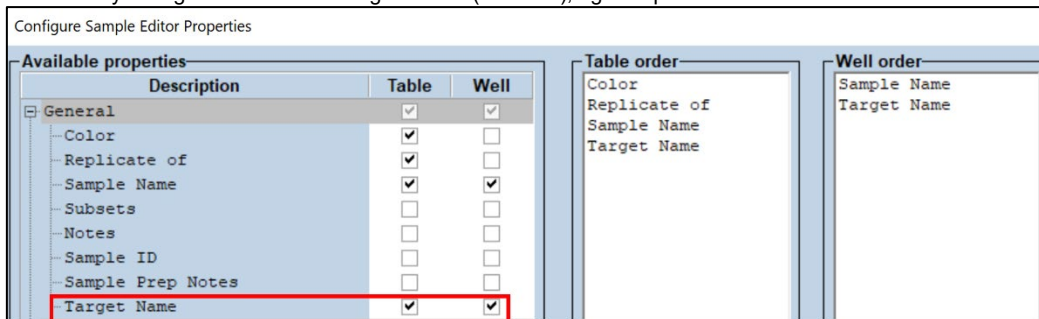
For at aktivere automatisk prøvedetektion i analysesoftwarens skal du tilføje målnavne og tildele navnetags til brøndene på pladen.

Åbn modulet **Sample editor** (Prøveredigering)

For at tilføje målnavne skal du vælge **Configure Properties** (Konfigurer egenskaber)



Markér afkrydsningsfelterne ud for 'Target Name' (Målnavn), og acceptér



Rediger **Target name** (Målnavn) for hver kanal, så det matcher den Target Instrument Reference (Målinstrumentreference), der er defineret i menuen Lab Configuration (Laboratoriekonfiguration) > Assay (Analyse) i analysesoftwarens og vist i **tabel 28**.

Tabel 28. Kanaler og målnavne for PlexPCR® VHS-mål

Target Name (Målnavn)	HSV-2	HSV-1	VZV	IC	<i>T. pallidum</i>
LC480 II-kanal	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

For at tildele navnetags skal du vælge brønden

Rediger **Sample Name (Prøvenavn)**, så det matcher det navnetag, der er defineret i menuen Lab Configuration (Laboratoriekonfiguration) > Assays (Analyser) i analysesoftwaren (se **afsnit 22.3**)

Prøver skal mærkes med navnetagget som præfiks. Standardnavnetags er angivet for kontrolreaktionerne (som vist i **tabel 29** og **Figur 4**). Ekstra navnetags kan defineres til både almindelige prøver og kontroller i analysesoftwaren eller redigeret software, så de matcher instrumentsoftwaren.

Bemærk: Navnetags skal stemme nøjagtigt overens med dem, der er tildelt i kørselsfilen.

Tabel 29. Eksempel på navnetags til analysesoftware	
Prøvetype	Standardpræfiks (i analysesoftware)
Regular sample (almindelig prøve)	Ingen standard – brugerdefineret
Negative Control (negativ kontrol)	NC
No Template Control (Ingen skabelonkontrol)	NTC
Positive Control (positiv kontrol) (alle mål) (Pa) Bemærk: Brug dette til Positive Control (positiv kontrol) HSV/VZV/TP (SpeedX, kat.nr. 95007)	PA
Positive Control (positiv kontrol) (HSV-1) (Pb)	PB
Positive Control (positiv kontrol) (HSV-2) (Pc)	PC
Positive Control (positiv kontrol) (VZV) (Pd)	PD
Positive Control (positiv kontrol) (<i>T. pallidum</i>) (Pe)	PE

Figur 4. Prøveredigering – Tildeling af målnavne og prøvenavnetags til brønde

Pos	Filter combination	Color	Sample Name	Repl Of	Target Name
A1	465-510 (465)	Blue	NC		HSV-2
A1	533-580 (533)	Blue	NC		HSV-1
A1	533-610 (533)	Blue	NC		VZV
A1	533-640 (533)	Blue	NC		Internal Control
A1	618-660 (618)	Blue	NC		T. pallidum
A2	465-510 (465)	Red	NTC		HSV-2
A2	533-580 (533)	Red	NTC		HSV-1
A2	533-610 (533)	Red	NTC		VZV
A2	533-640 (533)	Red	NTC		Internal Control
A2	618-660 (618)	Red	NTC		T. pallidum
A3	465-510 (465)	Green	Pa		HSV-2
A3	533-580 (533)	Green	Pa		HSV-1
A3	533-610 (533)	Green	Pa		VZV
A3	533-640 (533)	Green	Pa		Internal Control
A3	618-660 (618)	Green	Pa		T. pallidum
A4	465-510 (465)	Magenta	Pb		HSV-2
A4	533-580 (533)	Magenta	Pb		HSV-1
A4	533-610 (533)	Magenta	Pb		VZV
A4	533-640 (533)	Magenta	Pb		Internal Control
A4	618-660 (618)	Magenta	Pb		T. pallidum
A5	465-510 (465)	Grey	Pc		HSV-2
A5	533-580 (533)	Grey	Pc		HSV-1
A5	533-610 (533)	Grey	Pc		VZV
A5	533-640 (533)	Grey	Pc		Internal Control
A5	618-660 (618)	Grey	Pc		T. pallidum
A6	465-510 (465)	Yellow	Pd		HSV-2
A6	533-580 (533)	Yellow	Pd		HSV-1
A6	533-610 (533)	Yellow	Pd		VZV
A6	533-640 (533)	Yellow	Pd		Internal Control
A6	618-660 (618)	Yellow	Pd		T. pallidum
A7	465-510 (465)	Dark Red	Pe		HSV-2
A7	533-580 (533)	Dark Red	Pe		HSV-1
A7	533-610 (533)	Dark Red	Pe		VZV
A7	533-640 (533)	Dark Red	Pe		Internal Control
A7	618-660 (618)	Dark Red	Pe		T. pallidum

Indstil **Reaction Volumen** (Reaktionsvolumen) > 20 µL

Opret følgende program i **tabel 30** (vist mere detaljeret i **figur 5 – Figur 8**):

Tabel 30. Thermocycling Program (Termocyklings program)				
Programnavn	Cykusser	Mål °C	Hold	Temperaturændringshastighed (° C/s) [≠]
Polymerase activation (Polymeraseaktivering)	1	95°C	2 min.	4,4
Touch down cycling ^δ (Touchdown-cykling): Step down (Trin ned)- 0,5°C/cyklus	10	95°C	5 sek.	4,4
		61°C – 56,5°C ^δ	30 sek.	2,2
Quantification cycling ⁺ (Kvantificeringscykling): Acquisition/ (Indsamling/detektion)	40	95°C	5 sek.	4,4
		52°C ⁺	40 sek.	2,2
Cooling Køling	1	40°C	30 sek.	2,2

[≠] Standardtemperaturændringshastighed (plade med 96 brønde)

^δ **Step size (Trinstørrelse):** -0,5°C/cyklus, **Sec Target (sek. Mål):** 56°C

⁺ **Analysis mode (Analysetilstand):** Kvantificering, **Quantification, Acquisition mode (Indsamlingstilstand):** Single (Enkelt)

Figur 5. Termocyklingsprogram – Polymeraseaktivering

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:02:00	4.4	0	0	0	0

Figur 6. Termocyklingsprogram – Touchdown-cykling

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

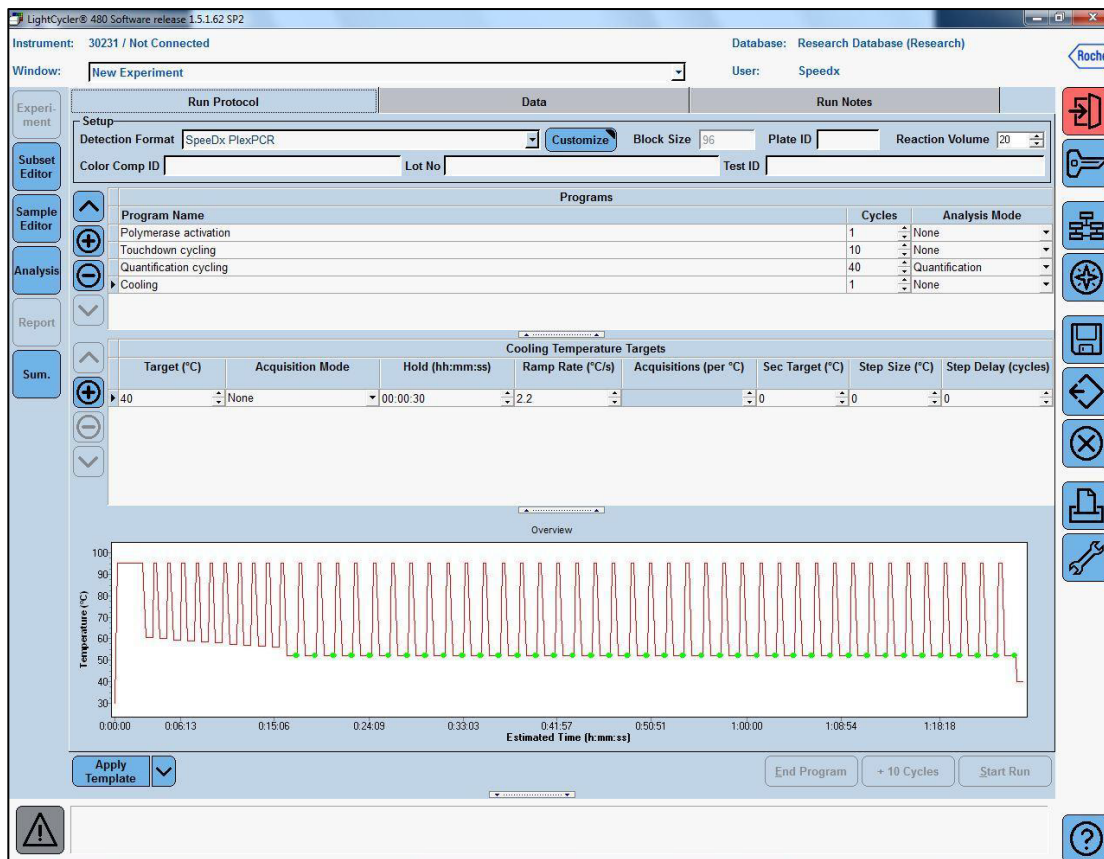
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
61	None	00:00:30	2.2	56	0.5	0	0

Figur 7. Termocyklingsprogram – Kvantificeringscykling

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
52	Single	00:00:40	2.2	0	0	0	0

Figur 8. Termocyklingsprogram – Køling



> Start Run (start kørsel)


Når cyklingsprogrammet er færdigt, skal du vedhæfte CC-objektet til kørselsfilen som vist i **Figur 9** og eksportere den som en .IXO-fil til analyse i **PlexPCR** VHS-analysesoftware. Se **afsnit 19.2** for instruktioner om, hvordan du opretter CC-objektet og gemmer det i LightCycler 480-software-databasen.


Vælg **Experiment (Eksperiment) > Data**


Klik på rullemenuen ud for **Colour Comp (Off) (Farvekompensation (Fra))**, og vælg **In Database (I databasen)**.

Figur 9. Vedhæftning af CC-objektet til kørselsfilen

The screenshot shows the SpeedX software interface. The 'Data' tab is active, and the 'Experiment' tab is highlighted with a red box. The 'Fluorescence History' plot shows fluorescence intensity (465-510) over time. The 'Temperature History' plot shows temperature (°C) over time. The 'Samples' list shows various sample names and positions. The 'Color Compensation Channels' dialog box is open, showing a list of channels with checkboxes and a 'Save' icon highlighted with a red box.

Vælg det relevante CC-objekt, sørg for, at alle kanaler er valgt, og vælg ikonet med fluebenet 

Vælg **Save (Gem)**-ikonet 

Vælg **Export (Eksport)**-ikonet 

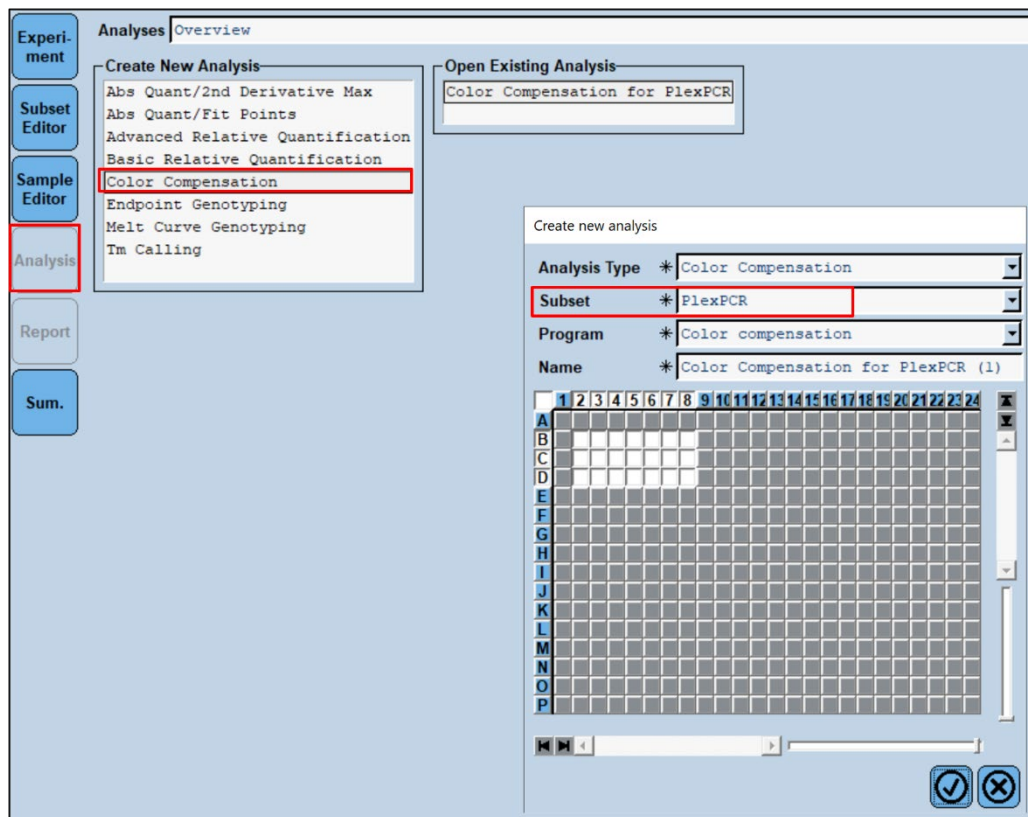
Gem på et let identificerbart sted

19.2 Farvekompenstation for LightCycler® 480 Instrument II

BEMÆRK: *PlexPCR*® Colour Compensation-kittet (katalognr. 90001) skal køres og anvendes til LC480 II-analyse. Dette kit kan leveres på forespørgsel.

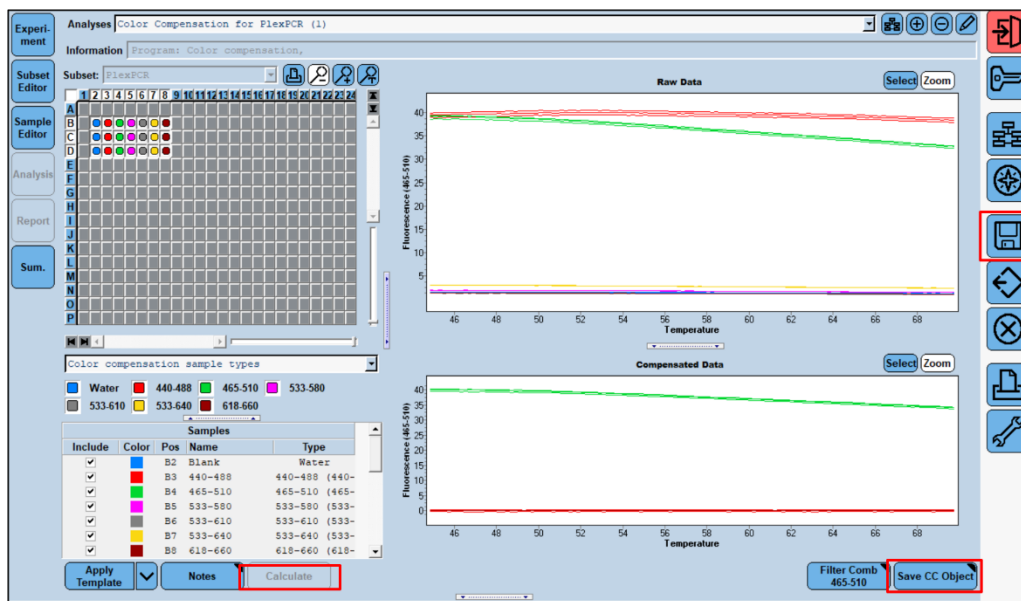
Analysér farvekompenstationsfilen via **Analysis (Analyse) > Color Compensation (Farvekompenstation)**, og vælg den korrekte delmængde, som vist i **figur 10**.

Figur 10. Analyse – Farvekompenstation



Vælg **Calculate (Beregn)** (figur 11).

Figur 11. Beregn og gem CC-objekt



Se brugsanvisningen til PlexPCR Colour Compensation (IF-IV0001) for yderligere oplysninger og for at sikre, at farvekompensationsfilen er oprettet korrekt.

Vælg **Save (Gem)** 

19.3 Fortolkning af resultater

Datafortolkning kræver analysesoftwaren **PlexPCR**® VHS (LC480). Analysesoftwaren kan leveres på forespørgsel. Der rettes henvendelse til tech@speedx.com.au for yderligere oplysninger.

Se **afsnit 22** for instruktioner til brug af **PlexPCR**® VHS (LC480)-analysesoftwaren.

20 Bilag 2: Applied Biosystems® 7500 Fast

Følgende oplysninger er baseret på 7500 Software v2.3.

PlexPCR® VHS₍₅₅₀₎-sættet indeholder farver til Applied Biosystems® (ABI) 7500 Fast. Der anvendes standardfarvekalibrationer til alle kanaler. Brugertilpasset kalibrering er ikke påkrævet.

20.1 Programmering af Applied Biosystems® 7500 Fast

Vælg **Advanced Setup** (avanceret opsætning)

I **Setup (opsætning)** > åbnes **Experiment Properties (eksperimentegenskaber)** og følgende vælges

Name the experiment (navngiv eksperimentet)

Instrument > 7500 Fast (96 brønde)

Type of experiment (eksperimenttype) > Quantitation (kvantificering) – Standard Curve (standardkurve)

Reagents (reagenser) > Other (andet)

Ramp Speed (rampehastighed) > Standard

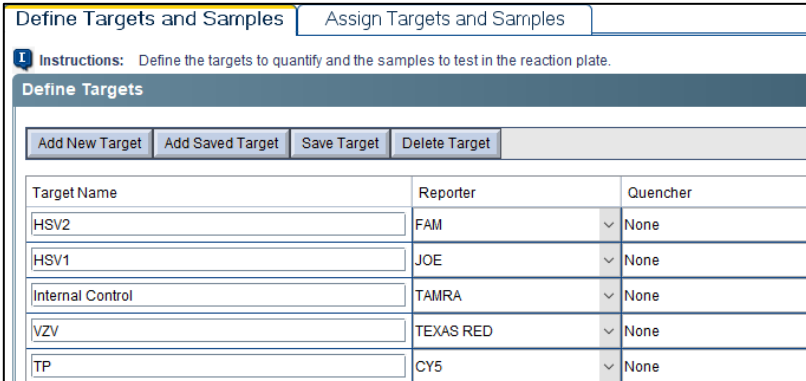
I **Setup (opsætning)** > åbnes **Plate Setup (opsætning af plade)**

Under fanen **Define Targets and Samples (definer mål og prøver)** >

Definer mål som vist nedenfor i **tabel 31** og **figur 12** (definer farver efter behov)

Tabel 31. Definer mål		
Target Name (Målnavn)	Reporter (Rapportør)	Quencher (Luminescensdæmper)
HSV-2	FAM	None
HSV-1	JOE	None
VZV	Texas Red	None
IC	TAMRA	None
<i>T. pallidum</i>	Cy5	None

Figur 12. Definer mål og prøver



Target Name	Reporter	Quencher
HSV2	FAM	None
HSV1	JOE	None
Internal Control	TAMRA	None
VZV	TEXAS RED	None
TP	CY5	None

Definer prøver (definer farver efter behov)

For at aktivere automatisk prøvedetektion i analysesoftwaren skal du sørge for, at Target name (målnavnet) (vist i **tabel 32**) matcher den målinstrumentreference, der er defineret i menuen **Lab Configuration > Assays (Laboratoriekonfiguration > Analyser)** i analysesoftwaren.

Derudover skal prøvenavnetags også tildeles brøndene på pladen.

I **Setup (Opsætning)** > åbnes **Plate Setup (Pladeopsætning)**

I fanen **Define Targets and Samples (Definer mål og prøver)** >

Define Samples (Definer prøver)

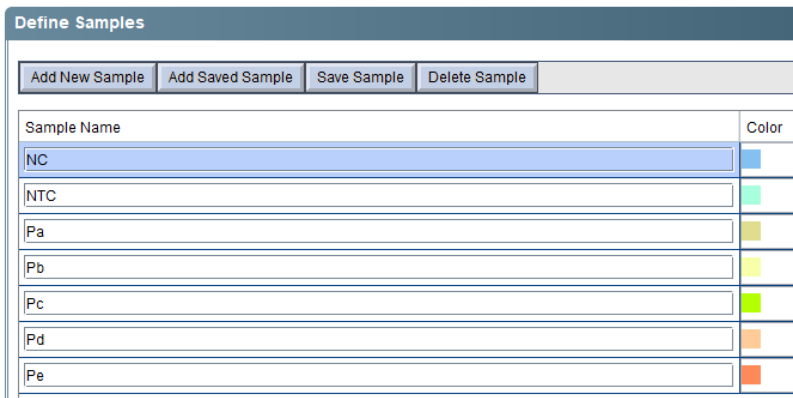
Rediger **Sample Name (Prøvenavn)**, så det matcher det navnetag, der er defineret i menuen **Lab Configuration > Assays (Laboratoriekonfiguration > Analyser)** i analysesoftwaren (se **afsnit 22.3**).

Prøver skal mærkes med navnetags som præfiks. Standardnavnetags er angivet for kontrolreaktionerne (som vist i **tabel 32** og **figur 13**). Yderligere navnetags kan defineres for både almindelige prøver og kontroller i analysesoftwaren eller redigeret software, så de matcher instrumentsoftwaren.

Bemærk: Navnetags skal stemme nøjagtigt overens med dem, der er tildelt i kørselsfilen.

Tabel 32. Eksempel på navnetags til analysesoftware	
PlexPCR® VHS (7500)	
Prøvetype	Standardpræfiks (i analysesoftware)
Regular sample (almindelig prøve)	Ingen standard – brugerdefineret
Negative Control (negativ kontrol)	NC
No Template Control (Ingen skabelonkontrol)	NTC
Positive Control (positiv kontrol) (alle mål) (Pa) Bemærk: Brug dette til Positive Control (positiv kontrol) HSV/VZV/TP (SpeedX, kat.nr. 95007)	PA
Positive Control (positiv kontrol) (HSV-1) (Pb)	PB
Positive Control (positiv kontrol) (HSV-2) (Pc)	PC
Positive Control (positiv kontrol) (VZV) (Pd)	PD
Positive Control (positiv kontrol) (<i>T. pallidum</i>) (Pe)	PE

Figur 13. Definer prøver – Tildeling af målnavne og prøvenavnetags til brønde



I fanen **Assign Targets and Samples (Tildel mål og prøver)** >

Vælg brønde, og tildel mål og prøver til de valgte brønde

Vælg **Passive reference > None (Passiv reference > Ingen)**

I Set Up (Opsætning) > åbnes Run Method (Kørselsmetode)

Indstil **Reaction Volume Per Well (Reaktionsvolumen pr. brønd)** > 20 µL

Opret følgende program i **tabel 33** (vist mere detaljeret i grafisk visning (**figur 14 og figur 15**) og tabelvisning (**figur 16**):

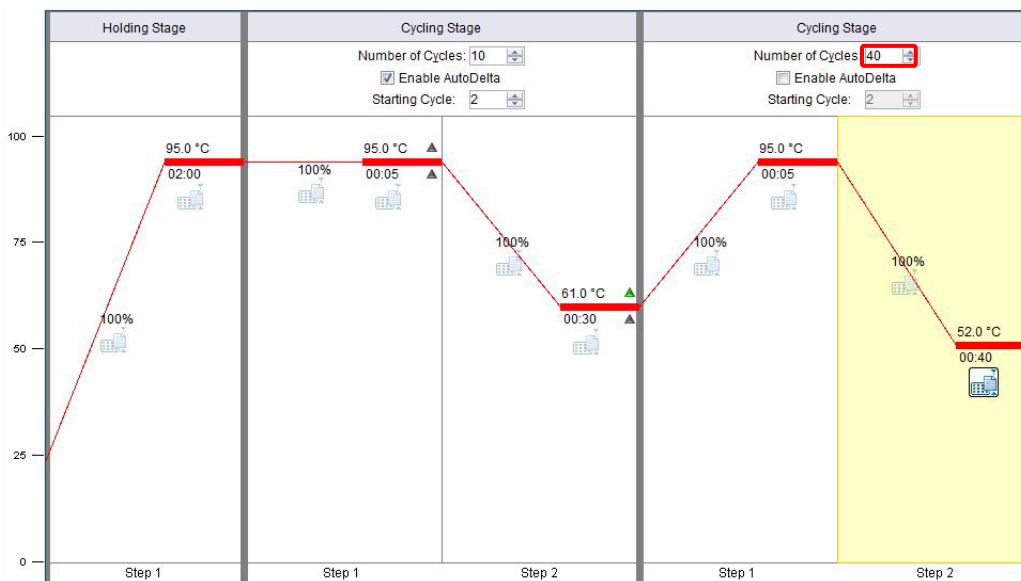
Tabel 33. Thermocycling Program (program for termocykling)				
Program Name (programnavn)	Cycles (cyklusser)	Target °C (Mål C)	Hold (ventetid)	Ramp (rampe)*
Polymerase activation (aktivering af polymerase)	1	95 °C	2 min	100 %
Touch down cycling (sænkning af cykling): Step down (trinvis ned) -0,5° C/cyklus [♠]	10	95 °C	5 s (sek.)	100 %
		61 °C – 56,5 °C [♠]	30 s (sek.)	100 %
Quantification cycling (kvantifikationscykling)*: Acquisition/Detection (opsamling/påvisning)	40	95 °C	5 s (sek.)	100 %
		52 °C ⁺	40 s (sek.)	100 %

* Standard rampefrekvens

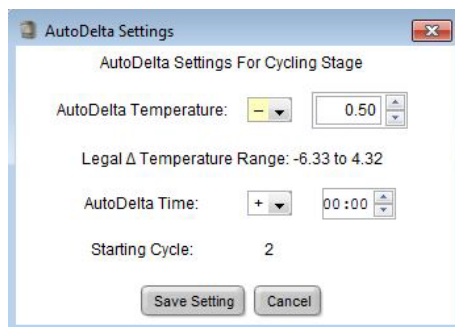
♠ Enable AutoDelta (aktiver AutoDelta): -0,5 °C/cyklus

+ Collect data on hold (indsaml tilbageholdte data)

Figur 14. Kørselsmetode – Graphical View (grafisk visning)



Figur 15. Kørselsmetode – Graphical View (grafisk visning) – Enable AutoDelta (aktiver AutoDelta)



Figur 16. Kørselsmetode – Tabular View (tabelvisning)

	Holding Stage	Cycling Stage		Cycling Stage	
		Number of Cycles: 10		Number of Cycles: 40	
		<input checked="" type="checkbox"/> Enable AutoDelta		<input type="checkbox"/> Enable AutoDelta	
		Starting Cycle: 2		Starting Cycle: 2	
Ramp Rate (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Temperature (°C)	95.0	95.0	61.0	95.0	52.0
Time	02:00	00:05	00:30	00:05	00:40
AutoDelta Temp		+ 0.00	- 0.50		
AutoDelta Time		+ 00:00	+ 00:00		
Collect Data on Ramp					
Collect Data on Hold					
	Step 1	Step 1	Step 2	Step 1	Step 2

Under **Setup (opsætning)** > Åbn **Run Method (kørselsmetode)**

Vælg **Start Run (start kørsel)**

20.2 Fortolkning af resultater

Datafortolkning kræver **PlexPCR® VHS (7500)** analysesoftware. Analysesoftwaren kan leveres efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

Se **afsnit 21** for instruktioner i brug af **PlexPCR® VHS (7500)**-analysesoftwaren.

21 Bilag 3: Bio-Rad CFX96 Dx™ og CFX96 Touch™ Realtids-PCR-system

Følgende oplysninger er baseret på Bio-Rad CFX Manager v3.1

PlexPCR® VHS₍₆₇₅₎-sættet indeholder farver til CFX96 Real-Time PCR System. Der anvendes standardfarvekalibrationer til alle kanaler. Brugertilpasset kalibrering er ikke påkrævet.

21.1 Programmering af CFX96 Dx og CFX96 Touch Real-time PCR System

Vælg **View (vis)** > **Åbn Run Setup (kørselsopsætning)**

Run Setup (kørselsopsætning) > fanen **Protocol (protokol)** > vælges **Create New (opret ny)**

I **Protokoleditor (se Figur 14)**:

Indstil **Sample Volume (prøvevolumen)** > 20 µL

Opret følgende termocyklingsprogram i **tabel 34** og gem det som 'SpeedX PCR'. Denne protokol kan vælges til fremtidige kørsler.

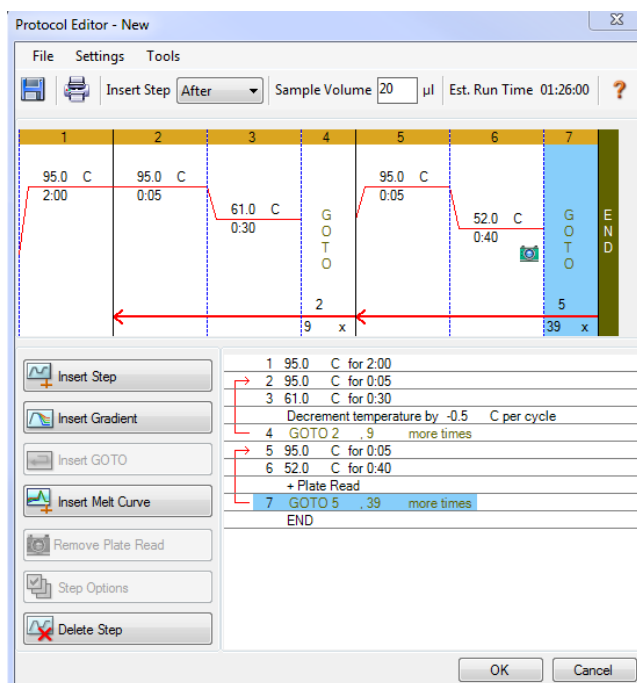
For sænkning af cykling vælges trin 3 og derefter **Step options (trinvalgmuligheder)** > Increment (trinvis): -0,5 °C/cyklus (vises mere detaljeret i **figur 18**).

Tabel 34. Thermocycling Program (program for termocykling)			
Program Name (programnavn)	Cycles (cyklusser)	Target °C (Mål C)	Hold (ventetid)
Polymerase activation (aktivering af polymerase)	1	95 °C	2 min
Touchdown cycling (sænkning af cykling) ^δ : Step down (trinvis ned) -0,5° C/cyklus	10	95 °C	5 s (sek.)
		61 °C – 56,5 °C ^δ	30 s (sek.)
Quantification cycling (kvantifikationscykling) ⁺ : Acquisition/Detection (opsamling/påvisning)	40	95 °C	5 s (sek.)
		52 °C ⁺	40 s (sek.)

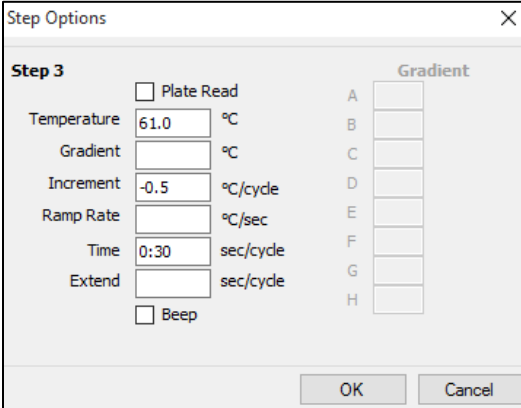
^δ **Step Options (trinvalgmuligheder)** > Increment (trin): -0,5 °C/cyklus

⁺ **Føj pladeaflysning til trin**

Figur 17. Protocol Editor (protokoleditor)



Figur 18. Protocol Editor (protokoleditor) - Step Options (trinvalgmuligheder)



I **Run Setup (kørselsopsætning)** > Fanen **Plate (plade)**

Vælg **Create New (opret ny)**

Vælg **Settings (indstillinger)** > **Plate Type (pladetype)** > Vælg **BR Clear (BR klar)**

Indstil **Scan mode (scanningstilstand)** > All channels (alle kanaler)

Vælg fluoroforer > FAM, HEX, Texas Red, Quasar 705, Cy5 (se **Tabel 35**).

Vælg brønde, der indeholder prøver, tildel **Sample Type (prøvetype)**, og afmærk **Load (indlæs)** for fluoroforer (FAM, HEX, Texas Red, Quasar 705, Cy5)

Gem pladen

Tabel 35. Kanaler til *PlexPCR*[®] VHS-mål

Target Name (Målnavn)	HSV-2	HSV-1	VZV	Intern kontrol	<i>T. pallidum</i>
CFX96-kanal	FAM	HEX	Texas Red	Quasar 705	Cy5

I **Run Setup (kørselsopsætning)** > Fanen **Start Run (start kørsel)**

Vælg en blok

Start Run (start kørsel)

For at aktivere automatisk prøvedetektion i analysesoftware skal du sørge for, at **Target Name (Målnavn)** og kanalen (vist i **Tabel 35**) stemmer overens med den Target Instrument Reference (Målinstrumentreference), der er defineret i menuen **Lab Configuration > Assays (Laboratoriekonfiguration > Analyser)** i analysesoftware.

Derudover skal prøvenavnetags også tildeles brøndene på pladen.

Åbn modulet **Plate Setup (Pladeopsætning)**

Vælg brønd

Rediger **Sample Name (Prøvenavn)**, så det matcher det navnetag, der er defineret i modulet **Lab Configuration > Assays (Laboratoriekonfiguration > Analyser)** i analysesoftware (se **afsnit 22.3**)

Prøver skal mærkes med navnetags som præfiks. Standardnavnetags er angivet for kontrolreaktionerne (som vist i **tabel 36** og **figur 19**). Yderligere navnetags kan defineres for både almindelige prøver og kontroller i analysesoftware eller redigeret software, så de matcher instrumentsoftware.

BEMÆRK: Navnetags skal stemme nøjagtigt overens med dem, der er tildelt i kørselsfilen.

Tabel 36. Eksempel på navnetags til analysesoftware

<i>PlexPCR</i> [®] VHS (CFX)	
Prøvetype	Standardpræfiks (i analysesoftware)
Regular sample (almindelig prøve)	Ingen standard – brugerdefineret
Negative Control (negativ kontrol)	NC
No Template Control (Ingen skabelonkontrol)	NTC
Positive Control (positiv kontrol) (alle mål) (Pa) Bemærk: Brug dette til Positive Control (positiv kontrol) HSV/VZV/TP (SpeedX, kat.nr. 95007)	PA
Positive Control (positiv kontrol) (HSV-1) (Pb)	PB
Positive Control (positiv kontrol) (HSV-2) (Pc)	PC
Positive Control (positiv kontrol) (VZV) (Pd)	PD
Positiv kontrol (<i>T. pallidum</i>) (Pe)	PE

Figur 19. Pladeredigeringsprogram – Tildeling af målnavne og prøvenavnetags til brønde

A	Pos HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC Pa	Neg HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC NC
	Pos HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC Pb	NTC HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC NTC
C	Pos HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC Pc	Unk HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC Sample 1
	Pos HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC Pd	Unk HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC Sample 2
E	Pos HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC Pe	Unk HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC Sample 3

21.2 Fortolkning af resultater

Datafortolkning kræver analysesoftwaren **PlexPCR**[®] VHS (CFX). Analysesoftwaren kan leveres på forespørgsel. Der rettes henvendelse til tech@speedx.com.au for yderligere oplysninger.

Se **Afsnit 22** for instruktioner til brug af analysesoftwaren **PlexPCR**[®] VHS (CFX).

22 Bilag A: Fortolkning af resultater vha. *PlexPCR*[®] VHS-analysesoftware

Datafortolkning kræver FastFinder med *PlexPCR*[®] VHS-analysesoftware.

Se **Tabel 37** for den relevante analysesoftware til at give mulighed for rapportering af HSV-1, HSV-2, VZV og *T. pallidum* med *PlexPCR*[®] VHS-sættet. Analysesoftware kan leveres efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

Tabel 37. Analysesoftware		
Kat. nr.	Analysis software (analysesoftware)*	qPCR-instrument
99004	<i>PlexPCR</i> [®] VHS (7500)	7500 Fast
99005	<i>PlexPCR</i> [®] VHS (LC480)	LC480 II
99006	<i>PlexPCR</i> [®] VHS (CFX)	CFX96 Dx og CFX96 Touch

* Se webstedet <https://www.plexpcr.com/plexpcr-vhs/resources> for at sikre, at du anvender den seneste version af analysesoftware.

BEMÆRK: Følg standardlaboratoriepraksis for overførsel, rapportering og opbevaring af resultater for at forhindre tab af prøveoplysninger.

22.1 FastFinder-platform – Minimumskrav til IT

Analysesoftware er tilgængelig på FastFinder-platformen (<https://www.ugentec.com/fastfinder/analysis>). Det anbefales, at kunderne tilgår softwareplatformen fra et sikkert og pålideligt netværk og en sikker og pålidelig computer. Minimumskravene til IT for adgang til og brug af FastFinder-platformen er anført nedenfor.

Hardwarekrav

Internetforbindelse Kabel eller DSL

Min. skærmopløsning: 1366x768 pixels, optimalt 1920 x 1080 pixels eller højere

Understøttede browsere

- Microsoft Edge 88 eller nyere
- Firefox 83 eller nyere
- Google Chrome 88 eller nyere.

Firewall-krav

Følgende værter skal kunne nås via HTTPS (port 443):

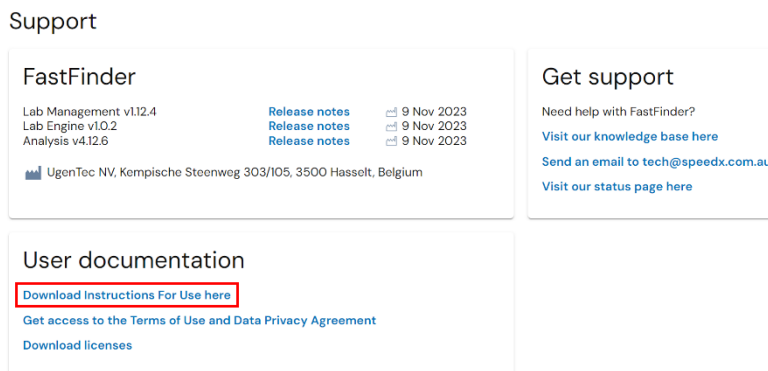
- *.ugentec.app
- *.fastfinder.app
- *.pendo.io
- *.fonts.gstatic.com
- *.googleapis.com
- *.msecnd.net
- *.visualstudio.com
- *.browser-update.org
- *.blob.core.windows.net
- *.powerbi.com
- *.analysis.windows.net
- *.pbideldicated.windows.net
- *.content.powerapps.com

Hvis det er nødvendigt, skal firewall-undtagelser konfigureres for disse værter. For at få adgang til alt indhold af brugervejledninger i appen skal værten *.player.vimeo.com også være tilgængelig.

For yderligere detaljerede instruktioner om **FastFinder**-platformen henvises til **FastFinder-brugsanvisningen**, som er tilgængelig fra menuen **Support**.

For at få adgang til menuen **Support**

- Vælg **Support** fra listen over menuvalgmuligheder i venstre sidepanel
- Vælg **Download Instructions For Use here (Download brugsanvisninger her)** i afsnittet **User Documentation (Brugerdokumentation)**



22.2 Analyse-plugin (ny bruger)

Se **FastFinder-brugsanvisningen** for detaljerede instruktioner til opsætning af analyser, som er tilgængelig fra menuen **Support**

FastFinder kan tilgås direkte via en webbrowser ved at logge ind med dit unikke brugernavn og din adgangskode på <https://customer.fastfinder.app>.

- Vælg **Lab Configuration > Assays (Laboratoriekonfiguration > Analyser)** fra menuen til venstre
- Vælg **Add New Assay (Tilføj ny analyse)**
 - > For LC480 II > Vælg **PlexPCR VHS (LC480)** fra listen
 - > For 7500 Fast > Vælg **PlexPCR VHS (7500)** fra listen
 - > For CFX96 Dx og CFX96 Touch > Vælg **PlexPCR VHS (CFX)** fra listen
- Vælg **Import Selected (Importer valgte)**

Sådan aktiverer eller deaktiverer du versioner af analyse-plugin'et


- > I fanen **General (Generelt)**
- > Naviger til Status
- > Vælg **Active** for at aktivere eller deaktivere versionen af analysen

22.3 Prøvenavngivning

Prøvenavnetags kan tildeles et analyse-plugin for at automatisere detektion af brønde og prøvetyper til analyse.

Vælg **Lab Configuration > Assays (Laboratoriekonfiguration > analyser)** fra menuen til venstre

- Under fanen **General (Generelt)**, skal du navigere til tabellen **Sample types (Prøvetyper)** med navnetags (præfix) og vælge  for at tilføje et nyt navnetag

- > Tilføj det ønskede ord, akronym eller bogstav til tekstfeltet
- > Standardnavnetags er angivet for kontrolementerne. Disse kan fjernes ved at vælge  ved siden af navnetagget
- I instrumentsoftwaren (før eller efter kørslen er afsluttet) skal du tildele det samme navnetag til de relevante brønde.
 - > For **LC480 II** se **afsnit 19** for instruktioner om programmering af prøvenavnetags i kørselsfilen
 - > For **7500 Fast** se **afsnit 20** for instruktioner om programmering af prøvenavnetags i kørselsfilen
 - > For **CFX96 Dx** og **CFX96 Touch** se **afsnit 21** for instruktioner om programmering af prøvenavnetags i kørselsfilen

BEMÆRK: Prøvenavnetags skelner mellem store og små bogstaver. Navnetags skal stemme nøjagtigt overens med dem, der er tildelt i kørselsfilen.

22.4 Analyse

Vælg **Analyses (Analyser)** i menuen til venstre for at starte en ny analyse

Vælg **+ Create New Analysis (+ Opret ny analyse)** øverst til højre på skærmen

Søg efter den fil, der skal uploades til analyse, fra en bestemt mappe

- Vælg kørselsfil (datafil) fra den relevante mappe
 - > Vælg **Open (Åbn)**

Analysen vises i **fanen Open (Åben)** som en ny række i tabellen.

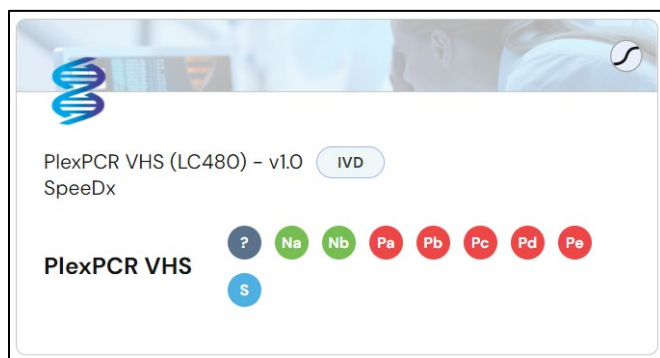
- Hvis alle navnetags er blevet anvendt og læst korrekt, vises status som **Ready for Review (Klar til gennemgang)**
- Hvis analyseoplysningerne skal tildeles manuelt til brøndene, vises status som **Manuel PCR-setup required (manuel PRC-opsætning påkrævet)**

Tildel analyseoplysningerne manuelt til pladen, hvis prøvenavngivningen ikke er konfigureret i menuen **Lab Configuration > Assays (Laboratoriekonfiguration > Analyser)** eller prøvenavne/mål ikke er anvendt i instrumentsoftwaren

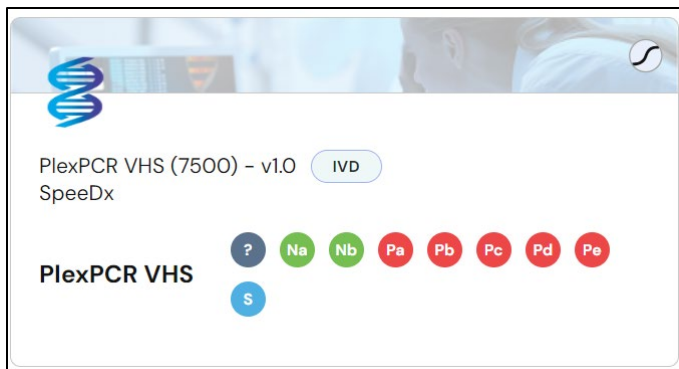
Vælg kørselsfilen fra **fanen Open (Åben)** i menuen **Analyses (Analyser)**

Pladekonfigurationen vises i **fanen PCR setup (PCR-opsætning)** for den åbne analyse

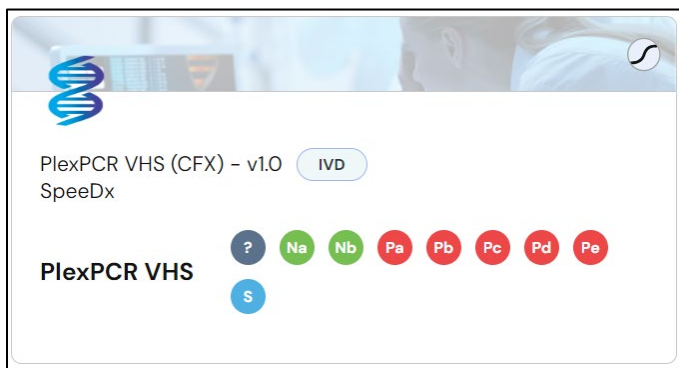
- For **LC480 II** > Vælg **PlexPCR VHS (LC480)**



- For **7500 Fast** > Vælg **PlexPCR VHS (7500)**



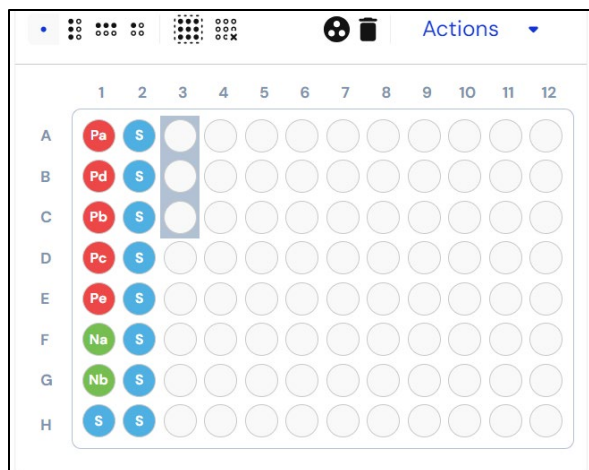
- For **CFX96 Dx** og **CFX96 Touch** > Vælg **PlexPCR VHS (CFX)**



- Vælg brønde og tildel dem som:
 - > Regular Sample (Almindelig prøve) (S)
 - > Negative Control (Na) (Negativ kontrol)
 - > No Template Control (Nb) (Ingen skabelonkontrol)
 - > Positive Control (positiv kontrol) (alle mål) (Pa) – brug denne til Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat.nr. 95007)
 - > Positive Control (positiv kontrol) (HSV-1) (Pb)
 - > Positive Control (positiv kontrol) (HSV-2) (Pc)
 - > Positive Control (positiv kontrol) (VZV) (Pd)
 - > Positive Control (positiv kontrol) (*T. pallidum*) (Pe)

For at tildele brønde på pladen, enten:

- Klik og træk de farvede symboler for at placere dem på pladen
- Vælg en eller flere brønde (brug Ctrl- og Shift-tasterne), og klik derefter på de relevante farvede symboler for at tildele dem til valget.



- Vælg **Analyze (Analyser)**

22.5 Resultater

Se **Tabel 39** for en oversigt over mulige rapporterede prøveresultater.

BEMÆRK: Det anbefales kraftigt, at amplifikationskurverne inspiceres visuelt og bekræftes for alle positive prøver.

22.5.1 Fanen Summary (Oversigt)

Kontrolresultater for hver analyse vises øverst til venstre på fanen Summary (Oversigt), hvilket muliggør evaluering af kontrollens validitet for kørslen. Flere detaljer kan findes ved at udvide denne blok og vise detaljerne pr. kontrol.

Control Results Filters | ⚙️

	<input checked="" type="checkbox"/> Pos_VHS	<input checked="" type="checkbox"/> Tp_VHS	<input checked="" type="checkbox"/> HSV1_VHS	<input checked="" type="checkbox"/> HSV2_VHS	<input checked="" type="checkbox"/> VZV_VHS
	VALID	VALID	VALID	VALID	VALID
HSV-2	⊕ Detected	⊖ Not detected	⊖ Not detected	⊕ Detected	⊖ Not detected
HSV-1	⊕ Detected	⊖ Not detected	⊕ Detected	⊖ Not detected	⊖ Not detected
VZV	⊕ Detected	⊖ Not detected	⊖ Not detected	⊖ Not detected	⊕ Detected
T. pallidum	⊕ Detected	⊕ Detected	⊖ Not detected	⊖ Not detected	⊖ Not detected








Hvis en kontrol er ugyldig, kan alle prøver markeres som mislykkede ved at vælge **Fail all samples for this assay (Alle prøver for denne analyse mislykket)**

Fail all samples for this assay





Failure reason ▼










Der skal vælges en årsag til fejlen fra rullemenuen

Prøveresultater vises nederst til venstre på fanen Summary (Oversigt). Ved siden af overskriften kan yderligere ikoner give et overblik over analyseresultaterne samt angive det samlede antal prøver, der svarer til et bestemt ikon.

	• Containing an error notification
	• Containing a warning notification
	• Marked for retest
	• Containing at least one detected assay result
	• Containing at least one not detected assay result
	• Containing at least one invalid assay result
	• Containing at least one inconclusive assay result

Hver prøve vises som en række i tabellen med prøveresultater.

Sample Results  1  10  1  1

			Sample	Assay	Result
▶	<input type="checkbox"/>		Sample_VHS 	PlexPCR VHS (CFX)	Invalid: HSV-2, HSV-1, VZV, T. pallidum
▶	<input type="checkbox"/>		Sample_VHS 	PlexPCR VHS (CFX)	Detected: VZV
▶	<input type="checkbox"/>		Sample_VHS 	PlexPCR VHS (CFX)	Detected: HSV-2, HSV-1
▶	<input type="checkbox"/>		Sample_VHS 	PlexPCR VHS (CFX)	Detected: T. pallidum
▶	<input type="checkbox"/>		Sample_VHS 	PlexPCR VHS (CFX)	Detected: HSV-2, HSV-1
▶	<input type="checkbox"/>		Sample_VHS 	PlexPCR VHS (CFX)	Not detected
▶	<input type="checkbox"/>		Sample_VHS 	PlexPCR VHS (CFX)	Detected: T. pallidum
▶	<input type="checkbox"/>		Sample_VHS 	PlexPCR VHS (CFX)	Detected: VZV

Items per page: 250 1 – 12 of 12+ |< < > >|

Rullemenuen giver flere detaljer om hvert måleresultat og Cq pr. prøve (se eksemplerne vist i **afsnit 22.10**).

Individuelle prøver kan markeres som mislykkede, hvis det ønskes (f.eks. hvis prøven er ugyldig) ved at vælge **Fail this sample for this assay (Denne prøve for denne analyse mislykket)**

Fail this sample for this assay

Failure reason ▼

Der skal vælges en årsag til fejlen fra rullemenuen

Fluorescensgrafer kan ses øverst til højre på fanen Summary (Oversigt)

Et pladelayout kan ses nederst til højre på fanen Summary (Oversigt)

Eksempler på oplysninger og advarselsmeddelelser er opsummeret nedenfor i **tabel 38**.

Tabel 38. Eksempel på information og advarselsmeddelelser til PlexPCR® VHS-analysesoftwaren*		
Prøvetype	Fejl	Notifikation
Meddelelser om analysemaal		
Almindelig prøve	Ugyldig – IC-fejl	Warning: IC invalid. Re-extract and re-test sample.
	Gyldig, men kontrol ugyldig – Advarsel om ugyldig kontrol på almindelig prøve med gyldigt resultat	Warning: Invalid control present. Re-extract and re-test the sample..
Negative Control (negativ kontrol)	Ugyldig - Kontaminering	Warning: Possible contamination detected.
No Template Control (Ingen skabelonkontrol)		
Genmålnotifikationer		
Almindelig prøve	Mål-Cq uden for grænseværdien	Info: Cq outside cutoff
Positiv kontrol	Ugyldig – Mål ikke fundet	Warning: Expected reaction did not occur in control.
Negative Control (negativ kontrol)	Ugyldig - Kontaminering	Warning: Possible contamination
	Ugyldig – IC ikke detekteret	Warning: IC not detected
	Ugyldig – IC Cq uden for afskæringsværdien	Warning: Cq outside cutoff
No Template Control (Ingen skabelonkontrol)	Ugyldig - Kontaminering	Warning: Possible contamination
Almindelig prøve eller kontrol	Usikkert fluorescenssignal	Warning: Uncertain fluorescence signal. Review required.
	Cq detekteret med lav fluorescens	dRn end fluorescence below cut-off

*Eksemplerne her er muligvis ikke relevante for alle analyse-plug-ins. Se FastFinder-brugsanvisningen for alle mulige meddelelser. Tilgængelig fra menuen Support.

22.5.2 Fanen Details (Detaljer)

Alle mål for hver prøve vises som separate rækker i tabellen i venstre side. Hvis du vælger en eller flere rækker, vises de tilsvarende fluorescenskurver på grafen øverst til højre, og brøndene i pladelayoutet, der vises nederst til højre, fremhæves også.

Vælg **Filters** (Filtre) for at vise resultater i henhold til parametre som analysenavn, prøvetype, mål og resultat.

For at færdiggøre analysen og undgå yderligere brugerredigeringer

- > Vælg **Athorize (Godkend)**
- > Vælg **Authorize (Godkend)** igen for at bekræfte
- Sådan tildeler du en anden gennemgang
 - > Vælg **Actions (Handlinger)**, **Assign label (Tildel etiket)** og **Second Review (Anden gennemgang)**
- Sådan tildeler du analysen til en anden bruger
 - > Vælg **Actions (Handlinger)** og **Assign user (Tildel bruger)**
 - > Vælg den relevante bruger fra rullelisten
- Sådan afvises analysen
 - > Vælg **Actions (Handlinger)** og **Discard Analysis (Kassér analyse)**
 - > Tilføj en kommentar, og vælg **Discard (Kassér)** for at bekræfte

22.6 Referencekurve

En referencekurve kan gemmes og bruges til at sammenligne med prøver på den samme plade eller på tværs af forskellige plader

- Vælg den ønskede prøve i enten fanen **Summary (Oversigt)** eller fanen **Details (Detaljer)**
- Fra menuen for **Amplification graph** > Vælg 
 - > Markér afkrydsningsfeltet for den aktuelle kurve, og vælg **Mark as reference (Markér som reference)**

Denne referencekurve vises nu knyttet til analysen i menuen **Lab Configuration > Assays (Laboratoriekonfiguration > Analyser)** i fanen **PCR**. og kan til enhver tid deaktiveres.

22.7 Eksport af resultater

- Sådan eksporterer du resultater fra en individuel autoriseret kørsel som enten en CSV- eller PDF-fil:
 - > Vælg **Actions (Handlinger) > Downloads** i øverste højre hjørne
 - > Vælg en af følgende rapporttyper: **Analysis (CSV)** eller **Analysis (PDF)**
- Sådan eksporterer du resultater fra flere tidligere godkendte kørsler som en enkelt CSV-fil:
 - > Naviger til menuen **Archive (Arkiv) > Sample Results (Prøveresultater)**
 - > Brug filtrene øverst på siden til at vise de resultater, du er interesseret i (CSV-filen er begrænset til maksimalt 10.000 resultater)
 - > Vælg **Eksport CSV (Eksporter CSV)** i øverste højre hjørne

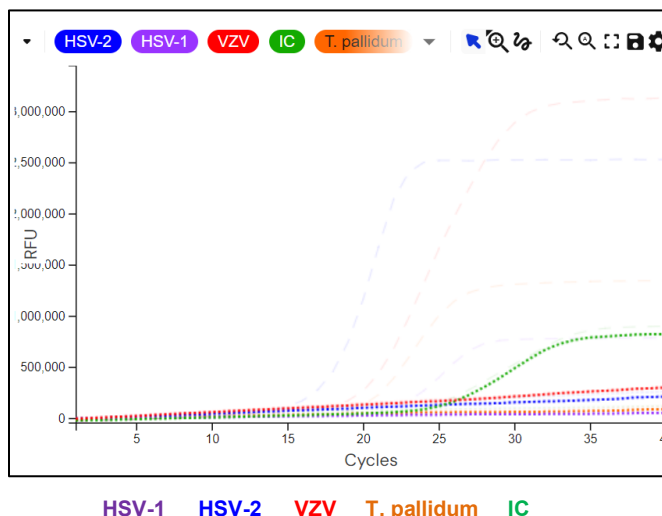
22.8 Hentning af autoriserede analyser

- Alle autoriserede analyser er tilgængelige ved at vælge **Archive > Analysis Results (Arkiv > Analyseresultater)**. Vælg en række for at vende tilbage til resultatoversigten for den pågældende analyse
- Alle godkendte regelmæssige prøver gemmes i menuen **Archive > Sample Results (Arkiv > Prøveresultater)**. Hvis du vælger en prøve, vises yderligere oplysninger, herunder analysens navn og resultatdetaljer
- De individuelle målresultater for alle godkendte regelmæssige prøver og kontroller gemmes i menuen **Archive > Target Results (Arkiv > Målresultater)**. Valg af et mål vil fremhæve dette på fluorescensgrafer. Ved valg af analysenavnet vendes der tilbage til resultatoversigten for den pågældende analyse.

22.9 Kontrol eksempelgrafer

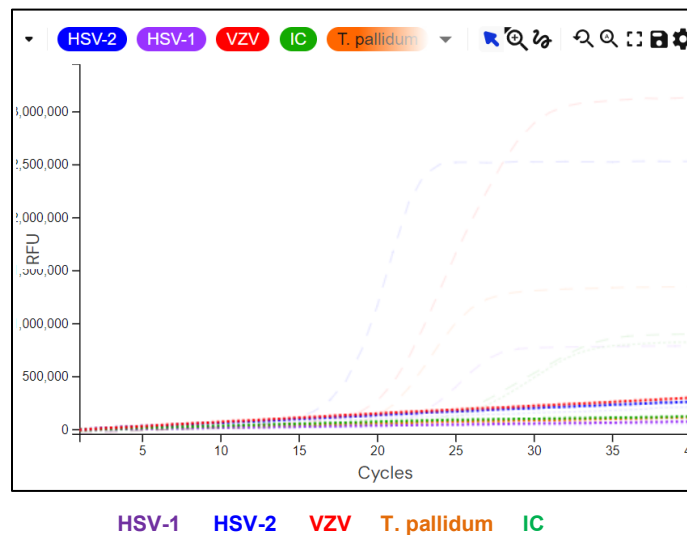
Følgende eksempler viser amplifikationskurverne (baseline-korrigerede amplifikationskurver) og resultatoversigten fra **PlexPCR VHS (7500)**-analyseprogrammet for kontrolprøvetyper.

22.9.1 Negativ kontrol (Na)

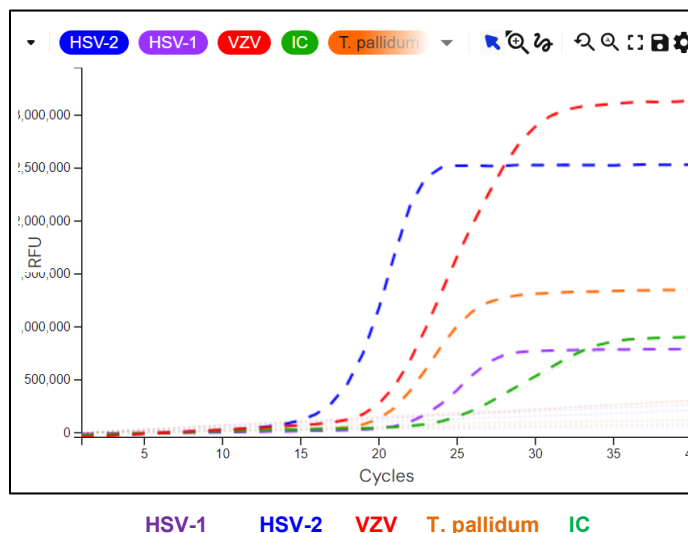


Prøve	Assay	Resultat
Na	PlexPCR VHS (7500)	Valid
HSV-2 ⊖ Not detected HSV-1 ⊖ Not detected VZV ⊖ Not detected T. pallidum ⊖ Not detected		

22.9.2 No Template Control (Nb) (Ingen skabelonkontrol)



Prøve	Assay	Resultat
Nb	PlexPCR VHS (7500)	Valid
HSV-2 ⊖ Not detected HSV-1 ⊖ Not detected VZV ⊖ Not detected T. pallidum ⊖ Not detected		


22.9.3 Positiv kontrol (alle mål) (Pa)

Prøve	Assay	Resultat
Pa	PlexPCR VHS (7500)	Valid
	HSV-2	⊕ Detected
	HSV-1	⊕ Detected
	VZV	⊕ Detected
	T. pallidum	⊕ Detected

22.10 **Eksempler**

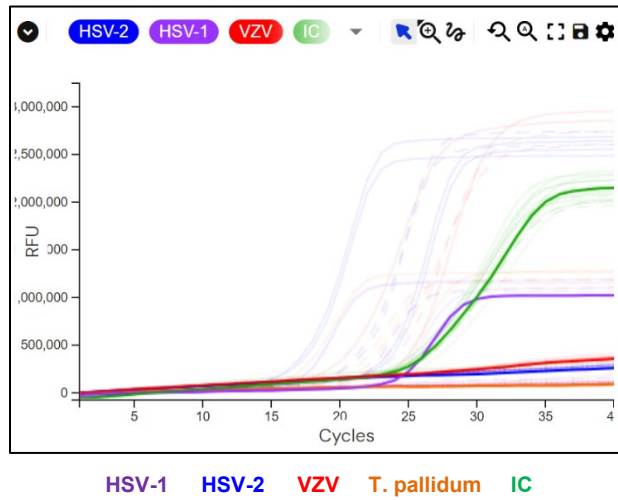
Eksempleresultater for **PlexPCR®VHS**-analyseprogrammet er vist i **Tabel 39**.

Tabel 39. Eksempleresultater for fortolkning af PlexPCR® VHS-analyseprogrammet			
	Prøve	Assay	Resultat
	Prøve 101	PlexPCR VHS (7500)	Not detected
	Prøve 102	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-2
	Prøve 103	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-1
	Prøve 104	PlexPCR VHS (7500)	Detected: VZV
	Prøve 105	PlexPCR VHS (7500)	Detected: T. pallidum
¹	Prøve 106	PlexPCR VHS (7500)	Invalid: HSV-2, HSV-1, VZV, T. pallidum

¹ En prøve, der fortolkes som ugyldig, vil blive markeret med 

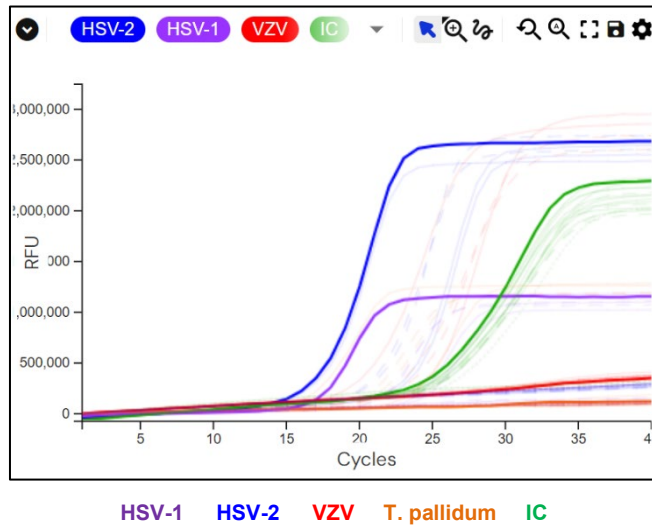
Følgende prøveresultater viser lineære baseline-korrigerede amplifikationskurver og resultatoversigten fra **PlexPCR® VHS (7500)** analyse-plugin'et.

22.10.1 Eksempel 1. Positiv prøve - enkelt mål detekteret



Prøve	Assay	Resultat																												
Prøve 107	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-1																												
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>Assay results</p> <table border="0"> <tr> <td>HSV-2</td> <td>⊖ Not detected</td> </tr> <tr> <td>HSV-1</td> <td>⊕ Detected</td> </tr> <tr> <td>VZV</td> <td>⊖ Not detected</td> </tr> <tr> <td>T. pallidum</td> <td>⊖ Not detected</td> </tr> </table> </div> <div style="width: 50%;"> <table border="0"> <tr> <td colspan="2">HSV-2</td> </tr> <tr> <td>↳ E2</td> <td>● Not detected</td> </tr> <tr> <td colspan="2">HSV-1</td> </tr> <tr> <td>↳ E2</td> <td>● Detected 23.968</td> </tr> <tr> <td colspan="2">VZV</td> </tr> <tr> <td>↳ E2</td> <td>● Not detected</td> </tr> <tr> <td colspan="2">IC</td> </tr> <tr> <td>↳ E2</td> <td>● Detected 26.162</td> </tr> <tr> <td colspan="2">T. pallidum</td> </tr> <tr> <td>↳ E2</td> <td>● Not detected</td> </tr> </table> </div> </div>			HSV-2	⊖ Not detected	HSV-1	⊕ Detected	VZV	⊖ Not detected	T. pallidum	⊖ Not detected	HSV-2		↳ E2	● Not detected	HSV-1		↳ E2	● Detected 23.968	VZV		↳ E2	● Not detected	IC		↳ E2	● Detected 26.162	T. pallidum		↳ E2	● Not detected
HSV-2	⊖ Not detected																													
HSV-1	⊕ Detected																													
VZV	⊖ Not detected																													
T. pallidum	⊖ Not detected																													
HSV-2																														
↳ E2	● Not detected																													
HSV-1																														
↳ E2	● Detected 23.968																													
VZV																														
↳ E2	● Not detected																													
IC																														
↳ E2	● Detected 26.162																													
T. pallidum																														
↳ E2	● Not detected																													

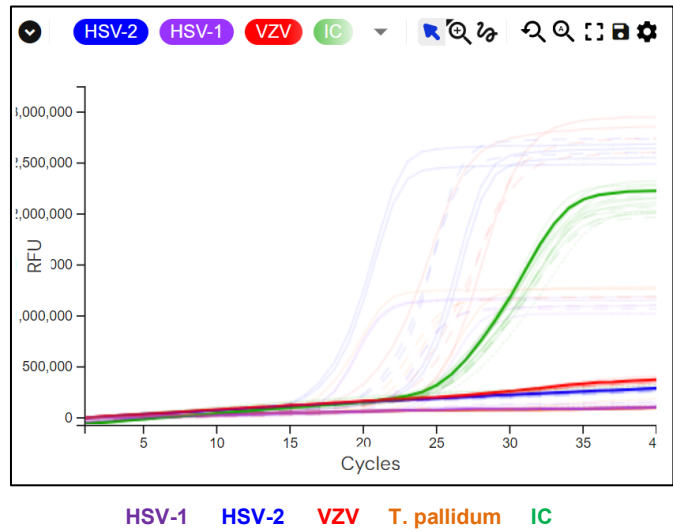
22.10.2 Eksempel 2. Positiv prøve – flere mål detekteret



Prøve	Assay	Resultat
Prøve 108	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-2, HSV-1

Assay results	Target	Result	Value
+	HSV-2	Detected	17.277
+	HSV-1	Detected	16.924
-	VZV	Not detected	
-	T. pallidum	Not detected	25.742

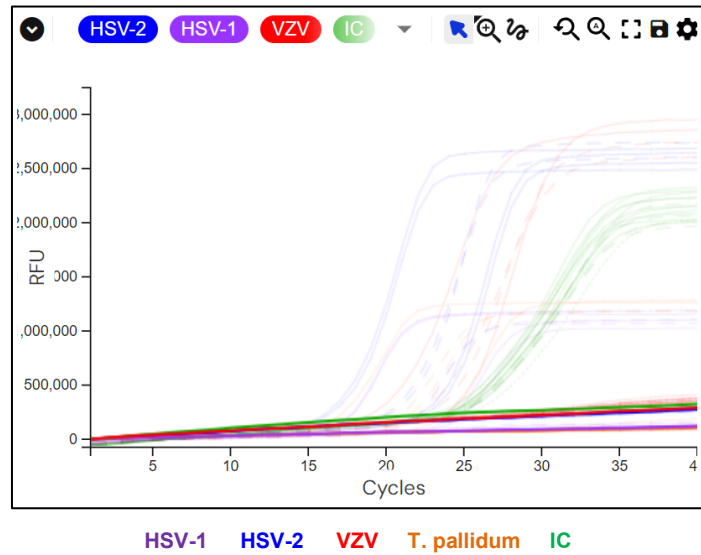
22.10.3 Eksempel 3. Negativ prøve



Prøve	Assay	Resultat
Prøve 109	PlexPCR VHS (7500)	Not detected

<div style="border: 1px solid #ccc; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p>Assay results</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">HSV-2</td> <td style="text-align: center;">⊖</td> <td>Not detected</td> </tr> <tr> <td>HSV-1</td> <td style="text-align: center;">⊖</td> <td>Not detected</td> </tr> <tr> <td>VZV</td> <td style="text-align: center;">⊖</td> <td>Not detected</td> </tr> <tr> <td>T. pallidum</td> <td style="text-align: center;">⊖</td> <td>Not detected</td> </tr> </table> </div>	HSV-2	⊖	Not detected	HSV-1	⊖	Not detected	VZV	⊖	Not detected	T. pallidum	⊖	Not detected	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td colspan="2">HSV-2</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 20px;">↳ C2</td> <td style="text-align: right;">● Not detected ▼</td> </tr> <tr> <td colspan="2">HSV-1</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 20px;">↳ C2</td> <td style="text-align: right;">● Not detected ▼</td> </tr> <tr> <td colspan="2">VZV</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 20px;">↳ C2</td> <td style="text-align: right;">● Not detected ▼</td> </tr> <tr> <td colspan="2">IC</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 20px;">↳ C2</td> <td style="text-align: right;">● Detected ▼ 25.869</td> </tr> <tr> <td colspan="2">T. pallidum</td> </tr> <tr> <td style="padding-left: 20px;">↳ C2</td> <td style="text-align: right;">● Not detected ▼</td> </tr> </table>	HSV-2		↳ C2	● Not detected ▼	HSV-1		↳ C2	● Not detected ▼	VZV		↳ C2	● Not detected ▼	IC		↳ C2	● Detected ▼ 25.869	T. pallidum		↳ C2	● Not detected ▼
HSV-2	⊖	Not detected																															
HSV-1	⊖	Not detected																															
VZV	⊖	Not detected																															
T. pallidum	⊖	Not detected																															
HSV-2																																	
↳ C2	● Not detected ▼																																
HSV-1																																	
↳ C2	● Not detected ▼																																
VZV																																	
↳ C2	● Not detected ▼																																
IC																																	
↳ C2	● Detected ▼ 25.869																																
T. pallidum																																	
↳ C2	● Not detected ▼																																

22.10.4 Eksempel 4. Ugyldig prøve



Prøve	Assay	Resultat
Prøve 110	PlexPCR VHS (7500)	Invalid: HSV-2, HSV-1, VZV, T.pallidum

Assay results

HSV-2	⚠ Invalid	Warning: IC invalid. Re-extract and re-test sample.
HSV-1	⚠ Invalid	Warning: IC invalid. Re-extract and re-test sample.
VZV	⚠ Invalid	Warning: IC invalid. Re-extract and re-test sample.
T. pallidum	⚠ Invalid	Warning: IC invalid. Re-extract and re-test sample.

↻ Retest this sample for this assay

HSV-2

↳ G2 ● Not detected ▼

HSV-1

↳ G2 ● Not detected ▼

VZV

↳ G2 ● Not detected ▼

IC

↳ G2 ● Not detected ▼

T. pallidum

↳ G2 ● Not detected ▼

23 Ordliste



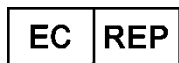
Europæisk konformitet
Til *in vitro*-diagnostisk brug



Katalognummer



Batchkode



Fabrikantens bemyndigede
Repræsentant i Det
Europæiske Fællesskab



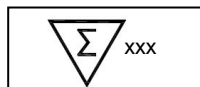
Fabrikant



Fremstillingsdato



Temperaturbegrænsning



Indeholder tilstrækkeligt
xxx bestemmelser



Anvendes inden



Europæisk importør



Storbritanniens
overensstemmelsesmærke

SpeedX-produkter kan dækkes af en eller flere lokale eller udenlandske patenter. Se www.plexpcr.com/patents vedrørende uddybende patentoplysninger.

PlexPCR[®], **ResistancePlus**[®], **PlexPrime**[®] og **PlexZyme**[®] er varemærker tilhørende SpeedX. Andre ophavsrettigheder og varemærker tilhører de respektive ejere.

© Copyright 2026 SpeedX Pty. Ltd.