



PlexPCR[®] VHS

Multiplex realtime PCR-test voor de detectie van Herpes simplex virus 1, Herpes simplex virus 2, Varicella zoster virus en *Treponema pallidum*



Product	Platform	Aantal (reacties)	Catalogusnr.
<i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₁₀₎	LC480 II	100	REF 1121001
<i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₅₅₀₎	ABI 7500 Fast	100	REF 1123001
<i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₇₅₎	CFX96 Dx CFX96 Touch	100	REF 1125001

Accessoireproducten – Analysesoftware

<i>PlexPCR</i> [®] VHS (LC480)	REF 99005
<i>PlexPCR</i> [®] VHS (7500)	REF 99004
<i>PlexPCR</i> [®] VHS (CFX)	REF 99006



MedEnvoy Global B.V.
Prinses Margrietplantsoen 33
Suite 123
2595 AM Den Haag
Nederland



SpeedX Pty Ltd
Suite 102, National Innovation Centre
4 Cornwallis Street, Eveleigh
NSW 2015, Australië
Tel.: +61 2 9209 4170, e-mail: tech@speedx.com.au

UITSLUITEND VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK*

Niet te koop in de VS

Inhoud

1	Productbeschrijving.....	4
2	Beoogd gebruik.....	4
3	Informatie over het pathogeen	4
4	Inhoud van de kit.....	5
5	Vervoer en opslag.....	6
6	Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen.....	6
6.1	Algemeen.....	6
6.2	Laboratorium	6
6.3	Verwerking van specimen.....	6
6.4	Assay	6
6.5	Veiligheidsvoorzorgsmaatregelen.....	6
6.6	Test-plug-ins: waarschuwingen/voorzorgsmaatregelen/beperkingen	6
7	Bijbehorende producten en verbruiksmaterialen.....	7
8	Principe van de technologie	9
9	Overzicht van de procedure	10
10	Gedetailleerde procedure.....	11
10.1	Monsterafname, transport en opslag	11
10.1.1	Gevalideerde hulpmiddelen voor monsterverzameling.....	11
10.1.2	Droog wattenstaafje in virustransportmedium, afname, vervoer en bewaren.....	11
10.1.3	Regular FLOQSwab™ steriel in droge buis (Copan, Cat. nr. 552C) - afname, transport en opslag	11
10.1.4	Droog wattenstaafje in 1 mL UTM-medium (Copan, Cat. nr. 350C) - afname, transport en opslag.....	11
10.2	Monsterverwerking.....	11
10.3	Internal Control (IC) (interne controle [IC]).....	12
10.3.1	Interne controle op de QIA Symphony® SP	12
10.3.2	Interne controle op de QIAcube HT	13
10.3.3	Internal Control (interne controle) op de MagNA Pure 96.....	13
10.4	Vorbereiding van real-time PCR.....	14
10.4.1	Vorbereiding mastermix.....	14
11	Programmering en analyse	14
12	Interpretatie van de resultaten.....	15
13	Beperkingen.....	15
14	Kwaliteitscontrole.....	15
15	Instructies voor Positive Control HSV/VZV/TP.....	16
15.1	Gebruiksaanwijzingen	16
16	Prestatiekenmerken	17
16.1	Klinische prestaties	17
16.1.1	Klinisch onderzoek 1	17
16.1.2	Klinisch onderzoek 2	17
16.2	Analytische prestaties	18
16.2.1	Reproduceerbaarheid en herhaalbaarheid.....	18
16.2.2	Analytische gevoeligheid	20
16.2.3	Analytische specificiteit.....	20
16.2.4	Concurrerende interferentie.....	21

16.2.5	Potentieel interfererende substanties	22
17	Klant- en technische ondersteuning	23
18	Referenties	23
19	Bijlage 1: LightCycler® 480 Instrument II	24
19.1	Het LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II) programmeren	24
19.2	Kleurcompensatie voor LightCycler® 480 Instrument II	31
19.3	Interpretatie van resultaten	32
20	Bijlage 2: Applied Biosystems® 7500 Fast	33
20.1	De Applied Biosystems® 7500 Fast programmeren	33
20.2	Interpretatie van de resultaten	36
21	Bijlage 3: Bio-Rad CFX96 Dx™ en CFX96 Touch™ realtime PCR-systeem	37
21.1	Het Bio-Rad CFX96 Dx en CFX96 Touch™ Real-Time PCR System programmeren	37
21.2	Interpretatie van resultaten	39
22	Bijlage A: Interpretatie van resultaten met behulp van <i>PlexPCR</i> ® VHS-analysesoftware	40
22.1	FastFinder-platform — Minimale IT-vereisten	40
22.2	Test plug-in (nieuwe gebruiker)	41
22.3	Monsternaamgeving	41
22.4	Analyse	42
22.5	Resultaten	44
22.5.1	Tabblad Summary Samenvatting	44
22.5.2	Details Tabblad	46
22.6	Referentiecurve	47
22.7	Resultaten exporteren	47
22.8	Geautoriseerde analyses ophalen	47
22.9	Voorbeeldgrafieken van controle	47
22.9.1	Negative Control (Na)	47
22.9.2	Geen sjabloonbeheer (Nb)	48
22.9.3	Positive Control (alle doelen) (Pa)	49
22.10	Voorbeelden	49
22.10.1	Voorbeeld 1. Positief monster - enkelvoudig doelwit gedetecteerd	50
22.10.2	Voorbeeld 2. Positief monster — meerdere doelen gedetecteerd	51
22.10.3	Voorbeeld 3. Negatief monster	52
22.10.4	Voorbeeld 4. Ongeldig monster	53
23	Woordenlijst	54

1 Productbeschrijving

De **PlexPCR**[®] VHS kit is een kwalitatief realtime PCR (qPCR)-assay voor de detectie van Herpes simplex virus 1 (HSV-1), Herpes simplex virus 2 (HSV-2), Varicella zoster virus (VZV) en *Treponema pallidum*. Het assay is gevalideerd op monsters die geëxtraheerd zijn met behulp van MagNA Pure 96 System (Roche), QIASymphony[®] SP (QIAGEN) en QIAcube HT (QIAGEN), and en realtime detectie op Applied Biosystems[®] 7500 Fast (7500 Fast), Roche LightCycler[®] 480 Instrument II (LC480 II) and Bio-Rad CFX96 Dx[™] (CFX96 Dx) and CFX96 Touch[™] (CFX96 Touch) realtime PCR-detectiesystemen.

2 Beoogd gebruik

De **PlexPCR**[®] VHS-kit is een *in vitro* diagnostische realtime PCR-test voor de kwalitatieve detectie en differentiatie van HSV-1, HSV-2, VZV en *T. pallidum*.

Dee **PlexPCR**[®] VHS-kit is bedoeld als hulpmiddel bij de diagnose van HSV-1, HSV-2, VZV en *T. pallidum* uit specimen van genitale, niet-genitale, anale/rectale en orale uitstrijkjes.

Negatieve resultaten sluiten HSV-1, HSV-2, VZV en *T. pallidum*-infecties niet uit, en mogen niet worden gebruikt als de enige grondslag voor beslissingen met betrekking tot diagnose, behandeling of andere aspecten van patiëntbeheer.

De **PlexPCR**[®] VHS-kit is bedoeld voor gebruik in een professionele omgeving, zoals in ziekenhuizen, referentie- en overheidslaboratoria. De kit is niet bedoeld voor zelftests, thuisgebruik of point-of-care-gebruik.

WAARSCHUWING: De **PlexPCR[®] VHS-kit is niet bedoeld voor gebruik met hersenvocht of voor gebruik in prenatale screening.**

3 Informatie over het pathogeen

Het Herpes simplex virus serotype 1 en 2 (HSV-1 en HSV-2) en het varicella zoster virus (VZV) zijn dubbelstrengs DNA-virussen die behoren tot de Herpesviridae-familie¹. Infectie met HSV-1 en HSV-2 bij mensen kan laesies veroorzaken op diverse plaatsen, waaronder in de mond/op het gezicht, in de genitaliën, de ogen, op de huid en in het centraal zenuwstelsel. Laesies kunnen ontstaan uit de primaire infectie of reactivering van een latente infectie. HSV-1 veroorzaakt voornamelijk infecties in de mond en op het gezicht en HSV-2 is over het algemeen gerelateerd aan seksueel overdraagbare aandoeningen². Primaire infectie met VZV veroorzaakt waterpokken en door reactivering hiervan later in het leven ontstaat Herpes zoster³. Cutane specimen omvatten huid en penis, en mucocutane specimen omvatten de ogen, de mond en de vagina. In zeldzamere gevallen kun herpesvirussen ook gerelateerd zijn aan virale encefalitis en hersenvliesontsteking of neonatale infecties die worden veroorzaakt door perinatale overdracht.

De *Treponema pallidum* ondersoort *pallidum* (*T. pallidum*) is een spirochete bacterie die de veroorzaker is van syfilis, een seksueel overdraagbare aandoening die verschillende weefsels en organen kan infecteren. Het typische kenmerk van primaire syfilis is het verschijnen van een cutane laesie, een "sjanker" (zweer) op de plaats van de infectie⁴. Deze zweer bevindt zich meestal in de genitaliën, maar kan ook op inoculatieplaatsen hierbuiten ontstaan, waaronder de mond en op het gezicht. Secundaire syfilis wordt gekenmerkt door een diffuse huiduitslag op de borst en de ledematen en kan zich ook manifesteren in de vorm van laesies in de slijmvliezen van de mond en de genitaliën⁵. Tertiaire syfilis kan wanneer deze niet wordt behandeld ernstigere manifestaties tot gevolg hebben, waaronder hepatitis, artritis neurosyfilis cardiovasculaire syfilis en granulomateuze syfilis⁴.

4 Inhoud van de kit

Aantal tests: Voldoende voor 100 reacties (20 µL reacties)

Tabel 1. Inhoud van de kit <i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₁₀₎ (catalogusnr. 1121001)			
Kleur dop	Inhoud	Beschrijving	Hoeveelheid
Blauw	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Mastermix met de benodigde componenten voor qPCR inclusief dNTP's, DNA-polymerase en buffer	1 x 1 mL
Groen	VHS Mix, 20x	Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van HSV-1, HSV-2, VZV & <i>T. pallidum</i>	1 x 100 µL
Wit	Control Mix 1 (controlemix 1), 20x	Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van de interne controle-assay voor LC480 II	1 x 100 µL
Rood	Internal Control cells (interne controlecellen) [#]	Interne controlecellen met DNA-matrijs voor interne controle voor het bepalen van de extractie- en amplificatie-efficiëntie	1 x 500 µL
Neutraal	Nuclease Free Water (nucleasevrij water)	Water van PCR-kwaliteit	1 x 1 mL

[#] Bewaar buisjes met matrijzen gescheiden van oligomixen, bijvoorbeeld in een ruimte voor het hanteren van matrijzen of nucleïnezuren.

[^] Oligonucleotiden zijn PCR-primeparen *PlexZyme*[®]-enzymen en fluorescerende probes

Tabel 2. Inhoud van de kit <i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₅₅₀₎ (catalogusnr. 1123001)			
Kleur dop	Inhoud	Beschrijving	Hoeveelheid
Blauw	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Mastermix met de benodigde componenten voor qPCR inclusief dNTP's, DNA-polymerase en buffer	1 x 1 mL
Groen	VHS Mix, 20x	Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van HSV-1, HSV-2, VZV & <i>T. pallidum</i>	1 x 100 µL
Wit	Control Mix 2 (controlemix 2), 20x	Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van de interne controle-assay voor 7500 Fast	1 x 100 µL
Rood	Internal Control cells (interne controlecellen) [#]	Interne controlecellen met DNA-matrijs voor interne controle voor het bepalen van de extractie- en amplificatie-efficiëntie	1 x 500 µL
Neutraal	Nuclease Free Water (nucleasevrij water)	Water van PCR-kwaliteit	1 x 1 mL

[#] Bewaar buisjes met matrijzen gescheiden van oligomixen, bijvoorbeeld in een ruimte voor het hanteren van matrijzen of nucleïnezuren.

[^] Oligonucleotiden zijn PCR-primeparen *PlexZyme*[®]-enzymen en fluorescerende probes

Tabel 3. Inhoud van de kit <i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₇₅₎ (catalogusnr. 1125001)			
Kleur dop	Inhoud	Beschrijving	Hoeveelheid
Blauw	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Mastermix met de benodigde componenten voor qPCR inclusief dNTP's, DNA-polymerase en buffer	1 x 1 mL
Groen	VHS Mix, 20x	Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van HSV-1, HSV-2, VZV & <i>T. pallidum</i>	1 x 100 µL
Wit	Control Mix 3 (controlemix 3), 20x	Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van de interne controle-assay voor CFX96 Dx en CFX96 Touch	1 x 100 µL
Rood	Internal Control cells (interne controlecellen) [#]	Interne controlecellen met DNA-matrijs voor interne controle voor het bepalen van de extractie- en amplificatie-efficiëntie	1 x 500 µL
Neutraal	Nuclease Free Water (nucleasevrij water)	Water van PCR-kwaliteit	1 x 1 mL

[#] Bewaar buisjes met matrijzen gescheiden van oligomixen, bijvoorbeeld in een ruimte voor het hanteren van matrijzen of nucleïnezuren.

[^] Oligonucleotiden zijn PCR-primeparen *PlexZyme*[®]-enzymen en fluorescerende probes

5 Vervoer en opslag

- De onderdelen van de **PlexPCR**[®] VHS-kits worden verzonden op droogijs of zakken met ijsgel. Alle onderdelen moeten na ontvangst worden bewaard bij -25°C tot -15°C. Geadviseerd wordt om het aantal vries/dooicycli te beperken tot 15.
- Als de kit wordt opgeslagen onder de aanbevolen omstandigheden en er op de juiste wijze mee wordt omgegaan, blijft de activiteit van de kit behouden tot de op het etiket vermelde houdbaarheidsdatum. Niet meer gebruiken na de houdbaarheidsdatum.

6 Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

6.1 Algemeen

- Uitsluitend voor *in vitro* diagnostisch gebruik.
- Lees deze instructies zorgvuldig voor het gebruik. Volg nauwkeurig de beschreven procedures om voor betrouwbare testresultaten te zorgen. Elke afwijking van deze procedures kan de testresultaten beïnvloeden.
- Gebruikers moeten goed getraind zijn in het gebruik van de **PlexPCR**[®] VHS assay.
- Elk ernstig incident moet worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de gebruiker en/of de patiënt is gevestigd.

6.2 Laboratorium

- Het wordt aanbevolen om monsterbereiding/-extractie, mastermixbereiding, monstertoevoeging en de temperatuurcycli op ruimtelijk gescheiden plaatsen uit te voeren. Het PCR-instrument moet zich bij voorkeur bevinden in een kamer die gescheiden is van ruimten waar reacties worden voorbereid.
- Het verdient aanbeveling om routinematige laboratoriumvoorzorgsmaatregelen te nemen. Draag geschikte persoonlijke beschermingsmiddelen, zoals handschoenen, een beschermende bril en een laboratoriumjas bij het hanteren van de reagentia.
- Er kunnen pathogene organismen aanwezig zijn in klinische specimens. Behandel alle biologische specimens als potentieel infecterend en volg de veiligheidsprocedures van uw instellingen bij de verwerking van chemicaliën en biologische monsters.
- Volg de procedures voor het afvoeren van gevaarlijk afval van uw instellingen voor de juiste afvoer van specimens, reagentia en andere potentieel vervuilde materialen.

6.3 Verwerking van specimens

- Specimens moeten worden verzameld, vervoerd en opgeslagen met standaard laboratoriumtechnieken of volgens de gebruiksaanwijzingen van de verzamelkit.

6.4 Assay

- Elementaire voorzorgsmaatregelen ter voorkoming van verontreiniging van PCR-reacties zijn onder meer het gebruik van steriele filterpipetpunten, het gebruik van een nieuwe pipetpunt voor elke pipettering en scheiding van de workflow.
- PCR-tests zijn gevoelig voor verontreiniging afkomstig van eerder gebruikte PCR-producten. Open reactievaten nooit na afloop van PCR.
- Het testreagens bevat een IDTE-buffer die ernstige oogirritatie kan veroorzaken. Het wordt aanbevolen om de reagentia in een goed geventileerde ruimte te gebruiken en de juiste persoonlijke beschermingsmiddelen te dragen bij het hanteren van de reagentia, zoals handschoenen, oogbescherming en een laboratoriumjas.

6.5 Veiligheidsvoorzorgsmaatregelen

- Op aanvraag zijn veiligheidsgegevensbladen (SDS) verkrijgbaar. Neem voor meer informatie contact op via tech@speedx.com.au.

6.6 Test-plug-ins: waarschuwingen/voorzorgsmaatregelen/beperkingen

- SpeedX-software kan alleen de analyse van ruwe data afkomstig uit de testkit uitvoeren wanneer deze wordt gebruikt met het bijbehorende PCR-instrument. De software heeft geen controle over de bereiding van monsters, reacties, programmering van de apparatuur of het uitvoeren van de behandeling.
- Gebruikers moeten voldoende getraind zijn in het gebruik van de **PlexPCR**[®] VHS-analysesoftware en de toegang moet worden beperkt tot elke aangewezen afzonderlijke gebruiker.

- Het wordt aanbevolen om gebruikersverificatie en cyberbeveiliging, zoals antivirussoftware, of het gebruik van een firewall binnen het IT-systeem en de infrastructuur die de software gebruikt, te implementeren.
- Neem bij detectie van een cybersecurityincident, zoals onbevoegde toegang en ransomware-aanvallen, contact op met tech@speedx.com.au voor verdere ondersteuning.

7 Bijbehorende producten en verbruiksmaterialen

Positief controlemateriaal

- Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, Cat. nr. 95007). Raadpleeg **Rubriek 15.1** voor de gebruiksaanwijzingen.

Hulpmiddelen voor monsterverzameling

- Regular FLOQSwab™ steriel in een droge buis (Copan, Cat. nr. 552C)
- Droog wattenstaafje in 1 mL UTM-medium (Copan, Cat. nr. 350C)

Algemene laboratoriumverbruiksmaterialen

- Handschoenen en schone laboratoriumjassen
- Vortexmixer
- Tafelcentrifuge voor buisjes van 0,5 mL en 1,5 mL
- Micropipetten
- Steriele aerosolbestendige pipetpunten
- Buisjes van 0,5 mL of 1,5 mL (PCR-kwaliteit)
- 2,0 mL buisjes (voor voorverdunding van interne controlecellen)
- Universal Transport Media (UTM) voor de bereiding van Positive Control HSV/VZV/TP. Raadpleeg **Rubriek 15.1** voor meer informatie

Voor MagNA Pure 96 Instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS - 1x met fosfaat gebufferde zoutoplossing)
- MagNA Pure 96 Internal Control Tube (buisje voor interne controle) (Roche, catalogusnr. 06374905001)
- MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit (Roche, catalogusnr. 06543588001)
- MagNA Pure 96 System Fluid (external) (vloeistof voor externe controle) (Roche, catalogusnr. 06640729001)
- MagNA Pure 96 Processing Cartridge (verwerkingspatroon) (Roche, catalogusnr. 06241603001)
- MagNA Pure 96 Pure tip 1000 µL (Zuivere tip 1000 µL) (Roche, catalogusnr. 6241620001)
- MagNA Pure 96 Output Plate (Roche, catalogusnr. 06241611001)
- MagNA Pure Sealing Foil (Zuivere afdichtfolie) (Roche, Catalogusnr. 06241638001)

Voor het QIASymphony® SP-instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS - 1x met fosfaat gebufferde zoutoplossing)
- Monsterpreparaatpatronen, 8-wells (Qiagen, catalogusnr. 997002)
- 8-draadsafdekkingen (Qiagen, catalogusnr. 997004)
- Filtertips, 200 µL en 1500 µL (Qiagen, catalogusnr. 990332 en 997024)
- 2 mL buisjes (gebruikt voor het bereiden van het interne controle-mengsel) (Sarstedt, catalogusnr. 72.639 of 72.694)
- 14 mL polystyreenbuisjes (gebruikt voor het bereiden van het interne controle-mengsel) (Corning, catalogusnr. 352051)

Voor het QIAcube HT-instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS - 1x met fosfaat gebufferde zoutoplossing)
- QIAamp 96 Virus QIAcube HT-kit (Qiagen, catalogusnr. 57731)
- Pipetten en pipetpunten voor eenmalig gebruik met aërosolbarrières (20-1000 µL)
- Isopropanol
- Ethanol (96-100%)
- QIAcube HT Reagent troughs (Reagensbakken)
- Buffer ATL (Qiagen, catalogusnr. 19076)
- QIAGEN Proteinase K (Qiagen, catalogusnr. 19131 of 19133)

Voor Applied Biosystems® 7500 Fast

- MicroAmp® Optical 96-well reaction plates (ThermoFisher Scientific, catalogusnr. 4316813)
- MicroAmp® Optical Adhesive Film (optisch hechtfolie) (ThermoFisher Scientific, catalogusnr. 4360954)

Voor LightCycler® 480 Instrument II

- **PlexPCR®** Colour Compensation (CC) kit (kleurcompensatiekit) (SpeedX, catalogusnr. 90001)
- LightCycler® 480 Multiwell Plate 96 (96-wells plaat) (Roche, catalogusnr. 04729692001)
- LightCycler® 480 Sealing Foil (afdichtfolie) (Roche, catalogusnr. 04729757001)

Voor Bio-Rad CFX96 Dx en CFX96 Touch™ realtime PCR-detectiesysteem

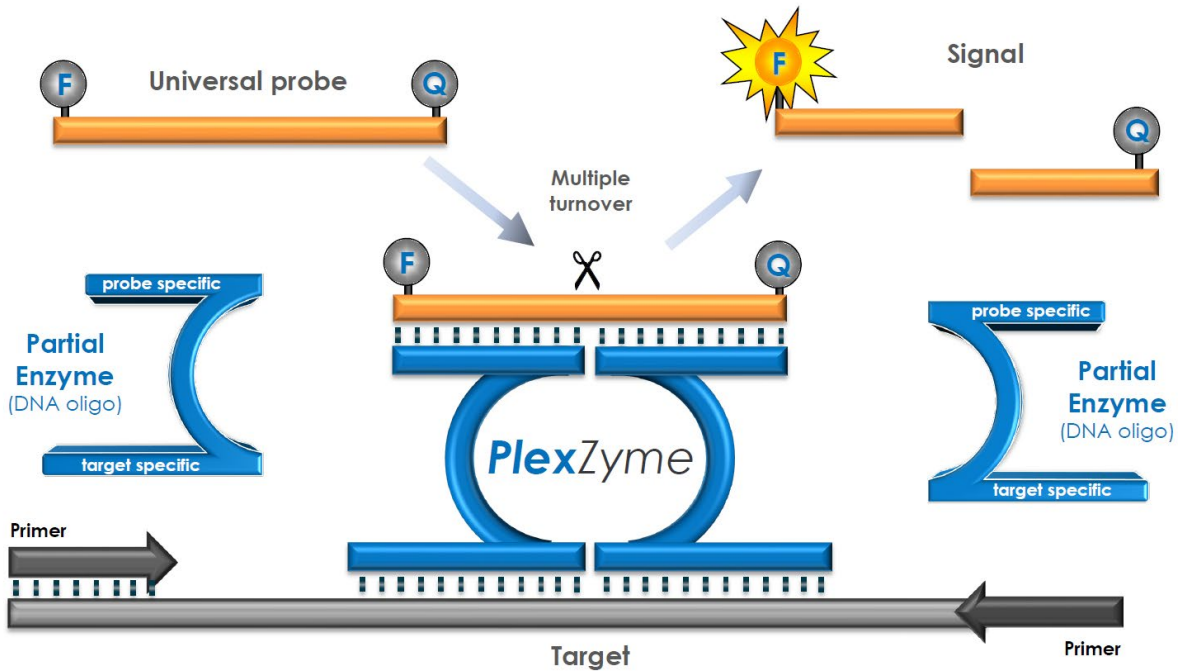
- Multiplate® 96-well PCR plates (96-wells-platen) (Bio-Rad, catalogusnr. MLP9601)
- Microseal® PCR Plate sealing Film (platafdichtfolie) (Bio-Rad, catalogusnr. MSB1001)

8 Principe van de technologie

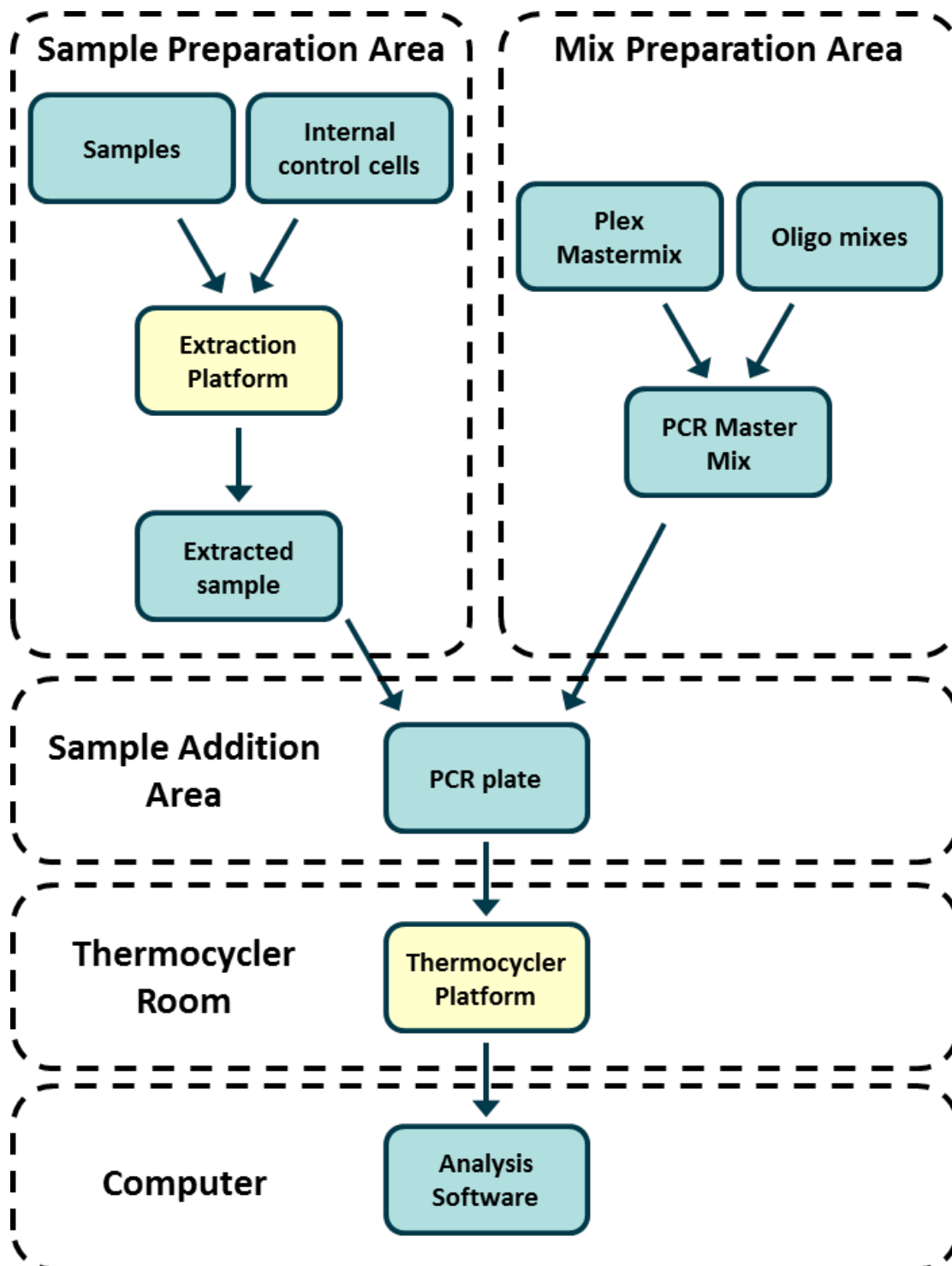
Realtime PCR (qPCR) kan worden toegepast om specifieke nucleïnezuren van pathogenen te amplificeren en te detecteren. **PlexPCR**[®] is een qPCR-technologie die gebruikmaakt van **PlexZyme**[®]-enzymen die het geamplificeerde product detecteren en weergeven door het genereren van een fluorescentiesignaal (**Afbeelding 1**).

PlexZyme[®]-enzymen zijn katalytische DNA-complexen die bestaan uit twee DNA-oligo's die worden aangeduid als "Partial Enzymes". Elk Partial Enzyme heeft een doelspecifiek gebied, een katalytische kern en een universeel probebindend gebied. Als het doelproduct aanwezig is, vormen de twee Partial Enzymes een verbinding om zo het actieve **PlexZyme**[®] te vormen dat de katalytische activiteit heeft om een gelabelde probe te splitsen. Door de splitsing worden de fluorofore en de quencherkleurstoffen van elkaar gescheiden, waardoor een fluorescentiesignaal wordt geproduceerd dat in realtime kan worden gemeten. **PlexZyme**[®]-enzymen hebben een extra specificiteit in vergelijking met alternatieve detectietechnieken, omdat er twee Partial Enzymes nodig zijn om een verbinding te maken voor de detectie. **PlexZyme**[®]-enzymen zijn ook enzymen met een meervoudige turnover, en tijdens elke PCR-cyclus kunnen meerdere probes worden gesplitst, waardoor een sterk en gevoelig signaal wordt verkregen. **PlexZyme**[®]-testen zijn zeer gevoelig en specifiek en zijn bij voorkeur geschikt voor de multiplexe detectie van pathogenen.

Afbeelding 1. Schematische voorstelling van **PlexZyme**[®]-detectie en universele signalering



9 Overzicht van de procedure



10 Gedetailleerde procedure

Opmerking: Geleverde reagentia zijn cursief weergegeven, met daarachter tussen haakjes de kleur van de deksel van het buisje.

10.1 Monsterafname, transport en opslag

Genitale, extragenitale, niet-genitale, anale/rectale en orale laesie monsters van mannen en vrouwen moeten worden afgenomen, vervoerd en bewaard met behulp van standaard laboratoriumtechnieken of volgens de gebruiksaanwijzing van de afnamekit.

10.1.1 Gevalideerde hulpmiddelen voor monsterverzameling

Het niet correct verzamelen, opslaan en transporten van monsters zal waarschijnlijk resulteren in onjuiste testresultaten. Een goede training in het verzamelen van monsters wordt sterk aangeraden, om de kwaliteit en stabiliteit van de monsters te garanderen.

Hulpmiddelen voor monsterverzameling, die zijn gevalideerd voor het gebruik met de **PlexPCR**[®] VHS-kit, worden hieronder beschreven met een korte handleiding gebaseerd op de gebruikersinstructies voor verzameling, hanteren en transport van de producent. Deze instructies zijn niet bedoeld om de door de producent verstrekte instructies te vervangen of teniet te doen. Raadpleeg altijd de gebruikersinstructies van de producent voor het correct verzamelen van monsters.

Voorafgaand aan het gebruik van elke verzamelmethode dienen getrainde medewerkers het hulpmiddel voor monsterverzameling en de methodologie goed te begrijpen. Raadpleeg ten minste de testbeschrijving voor het volgende: aanduiding van het monstertype, voldoende volume, procedure(s), benodigde verzamelmaterialen, voorbereiding patiënt, en het juist hanteren en bewaren van monsters.

10.1.2 Droog wattenstaafje in virustransportmedium, afname, vervoer en bewaren

Droge wattenstaafjes kunnen gebruikt worden voor afname van verschillende medische patiëntmonsters. Raadpleeg, vanwege de grote variatie, de bijsluiters van de producent voor de betreffende monstertypes en afnamemethoden.

10.1.3 Regular FLOQSwab™ steriel in droge buis (Copan, Cat. nr. 552C) - afname, transport en opslag

1. Open het zakje vanaf de met een pijl aangeduide zijkant en neem het wattenstaafje uit de verpakking zonder iets aan te raken met het wattengedeelte.
2. Neem het monster af. Om het risico op contaminatie te minimaliseren, dient het wattengedeelte tijdens de afname alleen in contact te komen met het gebied waarvan een monster moet worden afgenomen.
3. Hanteer het wattenstaafje in overeenstemming met de interne laboratoriumprocedures.
4. Aanbevolen opslag bij 4°C gedurende maximaal 24 uur. Voor langdurige opslag, bewaren bij of onder -80°C.

10.1.4 Droog wattenstaafje in 1 mL UTM-medium (Copan, Cat. nr. 350C) - afname, transport en opslag

1. Open de verpakking van de UTM-kit en verwijder het monsterbuisje met medium en het zakje met het steriele wattenstaafje.
2. Neem het steriele wattenstaafje uit het zakje en verzamel het medische monster; zorg ervoor dat het wattengedeelte alleen in contact komt met het gebied waarvan een monster moet worden afgenomen, om het risico op contaminatie te voorkomen.
3. Na afname van het monster, schroef de dop van het monsterbuisje; doe dit voorzichtig om morsen van de inhoud te voorkomen.
4. Plaats het uitstrijkje in het monsterbuisje tot het breekpunt van het wattenstaafje op gelijke hoogte is met de rand van het monsterbuisje.
5. Houd het geheel niet te dicht bij uw gezicht en buig en breek het wattenstaafje bij het breekpunt. Gooi het afgebroken bovenste deel van de steel weg.
6. Schroef de dop terug op het monsterbuisje en sluit deze hermetisch af.
7. Verwerk het monster in UTM binnen 48 uur na verzameling en bewaar de reageerbuis maximaal 24 uur bij 4°C. Voor langdurige opslag, bewaren bij of onder -80°C.
8. Voorafgaand aan het testen, vortex het monsterbuisje gedurende 20 seconden om het monster uit het wattenstaafje vrij te maken en homogeen in het medium op te lossen.

10.2 Monsterverwerking

De **PlexPCR**[®] VHS -kit is gevalideerd op de vermelde extractie-instrumenten **Tabel 4**.

Zie **rubriek 10.3** voor instructies over het gebruik van de Internal Control (interne controle).

Tabel 4. Gevalideerde extractieprotocollen				
Instrument	Extractiekit	Monstervolume	Protocol	Elutievolume
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 Zie **10.3.1** voor instructies over het gebruik van de interne controle met de QIASymphony SP

^b Zie **10.3.2** voor instructies over het gebruik van de interne controle op de QIAcube HT

^c Zie **10.3.3** voor het gebruik van de interne controle op de MagNA Pure 96. Het vloeibare medium van het geëluëerde Positive Control HSV/VZV/TP-uitstrijkje is geverifieerd voor nucleïnezuurextractie met deze methode. Raadpleeg **Rubriek 15.1** voor meer informatie.

10.3 Internal Control (IC) (interne controle [IC])

De kit bevat een interne controle om de extractie-efficiëntie en qPCR-remming te bepalen. De interne controle-assay wordt geleverd als een *Control Mix (controlemix) (WIT)* en *Internal Control cells (interne controlecellen) (ROOD)*. De *Control Mix (controlemix)* wordt toegevoegd aan de PCR Master Mix (PCR-mastermix) (**Tabel 10**). De *Internal Control cells (interne controlecellen)* bevatten de DNA-matrijs voor interne controle. De *Internal Control cells (interne controlecellen)* worden verdund en verwerkt zoals hieronder beschreven voor specifieke extractie-instrumenten. De interne-controle-DNA-matrijs wordt dus met het monster meegeëxtraheerd en in de reactie meegeamplificeerd.

10.3.1 Interne controle op de QIASymphony[®] SP

Zie voor gedetailleerde informatie de 'QIASymphony DSP Virus/Pathogen Gebruiksaanwijzing (Handboek)'. Het Internal Control-carrier RNA-buffer AVE-mengsel moet direct voor uitvoering worden aangemaakt. Extractie moet worden uitgevoerd volgens de instructies van de fabrikant.

Verdun de *Internal Control cells (interne controlecellen) (ROOD)* 1 op 50 in 1x PBS (**Tabel 5**). Pas het volume naar behoefte aan met dezelfde verdunningsfactor conform het aantal vereiste monsters.

Opmerking: Verdunde Internal Control cells (interne controlecellen) NIET bewaren

Tabel 5. Verdunning van Internal Control cells (interne controlecellen) voor de QIASymphony [®] SP (verdunning 1:50)		
Internal Control cells (interne controlecellen) (ROOD) (µL)	1x PBS (µL)	Totaal volume (µL)
40	1960	2000

De verdunde *Internal Control Cells (interne controlecellen)* worden vervolgens gebruikt om een Internal Control-carrier RNA-buffer AVE-mengsel te maken, zoals hieronder afgebeeld in **Tabel 6**. Pas het volume zo nodig aan en houd daarbij dezelfde verdunningsfactor aan voor het aantal vereiste monsters (zie de handleiding van de extractiekit voor het minimale volume voor het vereiste aantal monsters).

De buisjes met het Internal Control-carrier RNA-buffer AVE-mengsel worden vervolgens geplaatst in een buisdrager die in sleuf A van de monsterlade in de QIASymphony[®] SP wordt geladen. 120 µL (standaard) van het mengsel wordt aan elk monster toegevoegd.

Tabel 6. Bereiding van Internal Control-carrier RNA-buffer AVE-mengsel voor de QIASymphony

Soort buisje	Aantal monsters	Volume van verdunde IC-cellen (µL)	Vorraadddrager RNA (µL)	Buffer AVE (µL)	Totaal volume (µL)
-	1	10	3	107	120
2 mL	1 + leeg volume [^]	40	12	428	480
14 mL	1 + leeg volume [#]	60	18	642	720

[^]2 mL buisje vereist 3 aanvullende monsters (360 µL) om het lege volume te compenseren.

[#]14 mL tube vereist 5 aanvullende monsters (600 µL) om het lege volume te compenseren.

10.3.2 Interne controle op de QIACube HT

Verdun de *Internal Control Cells* (Interne controlecellen) (**ROOD**) 1 op 10 in 1x PBS (zie **Tabel 7** voor een voorbeeld). Pas het volume naar behoefte aan met dezelfde verdunningsfactor conform het aantal vereiste monsters.

Opmerking: Verdunde *Internal Control cells* (interne controlecellen) NIET bewaren

Tabel 7. Verdunning van Internal Control cells (interne controlecellen) voor de QIACube HT (verdunning 1 op 10)

<i>Internal Control cells</i> (interne controlecellen) (ROOD) (µL)	1x PBS (µL)	Totaal volume (µL)
30	270	300

De verdunde *Internal Control Cells* (interne controlecellen) worden vervolgens gebruikt voor het bereiden van Buffer ACL, carrier RNA en het mengsel van Interne controlecellen. De vereiste hoeveelheden per monster zijn vermeld in de 'QIACube HT Gebruikershandleiding'; zie **Tabel 8** voor een voorbeeld.

De QIACube HT Software berekent de hoeveelheden benodigde reagens en tips om het protocol te voltooien. Deze waarden zijn vermeld in de werktafelindeling in de QIACube HT werkruimte. Raadpleeg de QIACube HT Gebruikershandleiding voor gedetailleerde informatie. Het ACL-mengsel moet direct vóór het starten van de run worden voorbereid en worden toegevoegd aan de juiste bak. Extractie moet worden uitgevoerd volgens de instructies van de fabrikant.

Tabel 8. Bereiding van Buffer ACL, carrier RNA en Interne Controle

Aantal monsters	Volume van verdunde IC-cellen (µL)	Vorraadddrager RNA (µL)	Buffer ACL (mL)
24	280	140	4,5

Open het QIACube HT runbestand dat behoort bij het QIAamp 96 Virus QIACube HT.QSP protocol, klik op de run-knop om de run te starten.

10.3.3 Internal Control (interne controle) op de MagNA Pure 96

Verdun de *Internal Control cells* (interne controlecellen) (**ROOD**) 1 op 200 in 1x PBS (**Tabel 9**). Pas het volume zo nodig aan en houd daarbij dezelfde verdunningsfactor aan (zie de handleiding van de extractiekit voor het minimale volume voor het vereiste aantal monsters). De verdunde interne controlecellen worden in het Internal Control Tube (buisje voor interne controle) in de MagNA Pure 96 geladen en er wordt automatisch 20 µL aan elk monster toegevoegd (standaard).

Opmerking: Verdunde *Internal Control cells* (interne controlecellen) NIET bewaren

Tabel 9. Verdunning van Internal Control cells (interne controlecellen) voor de MagNA Pure 96 (verdunning 1:200)

Internal Control cells (interne controlecellen) (ROOD) (µL)	1x PBS (µL)	Totaal volume (µL)	Volume toegevoegd aan monster (µL)
18	3582	3600	20

10.4 Voorbereiding van real-time PCR

Opmerking: Vóór gebruik moeten de reagentia volledig worden ontdooid en goed worden gemengd door ze kort te vortexen.

Raadpleeg **Tabel 1 – Tabel 3** voor een beschrijving van de inhoud van de kit.

10.4.1 Voorbereiding mastermix

Voor een reactievolume van 20 µL is 15 µL mastermix en 5 µL extract nodig. Bereid de mastermix zoals aangegeven in **Tabel 10**.

- Pipetteer de mastermix in de PCR-plaat en voeg vervolgens geëxtraheerd monster aan de reactie toe.
- Op elke plaat moeten positieve en negatieve controles worden uitgevoerd.
- Dicht de plaat af, centrifugeer en breng over naar de thermocycler.

Tabel 10. Mastermix

Reagens	Concentratie	Volume per 20 µL reactie (µL)
Nuclease Free Water (nucleasevrij water) (Neutraal)	n.v.t.	3,0
Plex Mastermix (BLAUW)	2x	10,0
VHS mix, 20x (GROEN)	20x	1,0
Control Mix (controlemix)* (WIT)	20x	1,0
Totaal volume (µL)		15,0
Voeg 5 µL monster toe zodat het eindvolume op 20 µL komt		

* Control Mixes (controlemixen) zijn specifiek voor qPCR-instrumenten, zie **rubriek 4** voor de meegeleverde Control Mix

11 Programmering en analyse

Details voor programmering en analyse zijn beschreven in **Rubriek 19 – Rubriek 21**.

De **PlexPCR**[®] VHS-kit maakt gebruik van vijf kanalen voor de detectie van HSV-1, HSV-2, VZV en *T. pallidum* en Internal Control (Interne controle) (**Tabel 11**).

Tabel 11. Kanalen voor PlexPCR[®] VHS-targets

qPCR-instrument	HSV-2	HSV-1	VZV	Internal Control (interne controle)	<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 en CFX96 Touch	FAM	HEX	Texas Red	Quasar 705	Cy5

12 Interpretatie van de resultaten

Voor gegevensinterpretatie is de **PlexPCR**[®] VHS analysesoftware nodig. De **PlexPCR**[®] VHS analysesoftware automatiseert de gegevensinterpretatie van de amplificatieresultaten en stroomlijnt de workflow. Instructies voor het gebruik van de analysesoftware vindt u in **Rubriek 22**.

Zie **Tabel 12** voor de juiste analysesoftware voor elk instrument voor realtime PCR. De analysesoftware is op aanvraag leverbaar. Neem voor meer informatie contact op via tech@speedx.com.au.

Tabel 12. Analysesoftware		
Catalogusnr.	Analysesoftware	qPCR-instrument
99005	PlexPCR [®] VHS (LC480)	LC480 II
99004	PlexPCR [®] VHS (7500)	7500 Fast
99006	PlexPCR [®] VHS (CFX)	CFX96 Dx en CFX96 Touch

Raadpleeg de website <https://www.plexpcr.com/plexpcr-vhs/resources> om na te gaan of u de nieuwste versie van de analysesoftware gebruikt.

13 Beperkingen

- De **PlexPCR**[®] VHS-assay dient uitsluitend te worden uitgevoerd door personeel dat opgeleid is voor de procedure en deze moet worden uitgevoerd overeenkomstig deze gebruiksaanwijzing.
- Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van afdoende verzameling, vervoer, opslag en verwerking van de specimen. Het niet volgen van de juiste procedures in een van deze stappen kan tot onjuiste resultaten leiden.
- De **PlexPCR**[®] VHS-assay is een kwalitatieve assay en levert geen kwantitatieve waarden of informatie over de hoeveelheid organismen.
- Resultaten van de test moeten gecorreleerd worden met de klinische geschiedenis, epidemiologische gegevens, laboratoriumgegevens en alle andere gegevens waarover de arts beschikt.
- Negatieve resultaten sluiten de mogelijkheid van infectie als gevolg van de onjuiste verzameling van monsters, technische fouten, de aanwezigheid van inhibitoren, dooreenhalen van specimens, of kleine aantallen organismen in het klinische specimen niet uit.
- Onjuiste positieve resultaten kunnen optreden als gevolg van kruisbesmetting door doelorganismen, hun nucleïnezuren of een versterkt product.
- De **PlexPCR**[®] VHS-kit is niet bedoeld voor gebruik met hersenvocht of voor gebruik in prenatale screening.

14 Kwaliteitscontrole

De **PlexPCR**[®] bevat een interne controle om de extractie-efficiëntie en qPCR-remming te bepalen (**rubriek 10.3**)

De Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, Cat# 95007) wordt aanbevolen als externe Positive Control. Externe Positive Controls worden gebruikt voor routinematige kwaliteitscontroles om de gebruiker te helpen bij het detecteren van onverwachte omstandigheden die tot testfouten kunnen leiden. De gedetailleerde instructies zijn te vinden in de **Rubriek 15.1** voor de Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, Cat# 95007). Geadviseerd wordt om een bekend negatief monster als Negative Control te gebruiken.

15 Instructies voor Positive Control HSV/VZV/TP

De Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, Cat. nr. 95007) is de aanbevolen externe Positive Control die goedgekeurd is voor gebruik als externe Positive Control met de *PlexPCR*[®] VHS-kit. Externe Positive Controls worden gebruikt voor routinematige kwaliteitscontroles om de gebruiker te helpen bij het detecteren van onverwachte omstandigheden die tot testfouten kunnen leiden.

De Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, Cat. nr. 95007) moet tot gebruik bij 2°C tot 30°C worden bewaard. Na opening mag de Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, Cat. nr. 95007) niet opnieuw worden gebruikt.

Zie de bijsluiter van Positive Control HSV/VZV/TP voor meer informatie over opslag en beperkingen.

15.1 Gebruiksaanwijzingen

Bereid de SpeedX Positive Control HSV/VZV/TP voor in Universal Transport Medium (UTM) door de punt van het wattenstaafje onder te dompelen in 3 mL UTM, het wattenstaafje vervolgens op het breekpunt vast te klikken voordat u de schroefdop bevestigt en gedurende één minuut bij kamertemperatuur te incuberen. Draai de flacon voorzichtig rond met de ondergedompelde tip gedurende 45 seconden (verwijder de tip niet).

Het vloeibare medium van het geëluëerde Positive Control HSV/VZV/TP-uitstrijkje is geverifieerd voor nucleïnezuurextractie met de MagNA Pure 96. Verwerk de vloeibare media van het geëluëerde uitstrijkje Positive Control HSV/VZV/TP voor de nucleïnezuurextractiestap met de MagNA Pure 96 zoals beschreven in **Rubriek 10.2** en **Rubriek 10.3.3**

Bereid qPCR-reacties voor zoals beschreven in **Rubriek 10.4**, gebruikmakend van het Positive Control materiaal als monster.

Zodra u de PC in 3 mL UTM hebt bereid, kunt u dit aliquoteren in volumes voor eenmalig gebruik (aanbevolen aliquoteervolume van 210 µL) en blijft het 30 dagen lang stabiel tussen -25°C en -15°C.

Zodra u het foliezakje hebt geopend, dient u onmiddellijk het Positive Control HSV/VZV/TP-wattenstaafje te gebruiken.

16 Prestatiekenmerken

16.1 Klinische prestaties

16.1.1 Klinisch onderzoek 1

Het Public Health Laboratory (PHL) in Bristol, Engeland, heeft een retrospectieve klinische studie uitgevoerd. De monsters werden verzameld tussen januari en maart 2017 en op basis van de klinische laboratoriumresultaten werden 222 M. positieve en 205 negatieve monsters geselecteerd voor opname in het onderzoek. De 222 monsters bestonden uit 161 genitale uitstrijkjes, 14 anale/rectale uitstrijkjes, 46 niet-genitale uitstrijkjes en 1 uitstrijkje (zonder gespecificeerde plaats). De monsters werden geëxtraheerd met gebruik van het QIASymphony SP (Qiagen) extractiesysteem met gebruik van de DSP Virus/Pathogen Minikit (Qiagen) en het Cell free 200 protocol. Er werd 200 µL monster geëxtraheerd en het uiteindelijke elutievolume was 85 µL. De monsters werden getest in 20 µL reacties op het 7500 Fast-instruments met gebruik van de **PlexPCR**[®] VHS₍₅₅₀₎-kit.

De prestaties van de **PlexPCR**[®] VHS-kit werden door PHL Bristol vergeleken met de klinische laboratoriumresultaten van de in-house realtime PCR, waarbij het in-house resultaat werd beschouwd als het ware resultaat. De gevoeligheid en specificiteit van de **PlexPCR**[®] VHS-kit worden weergegeven in **Tabel 13**. De analyse van de resultaten volgens specimentype is weergegeven in **Tabel 14**.

Tabel 13. Vergelijking van de PlexPCR [®] VHS ₍₅₅₀₎ -kit en PHL in-house realtime PCR-assays									
		PHL in-house realtime PCR assays							
		HSV-1 resultaat		HSV-2 resultaat		VZV resultaat		<i>T. pallidum</i> resultaat	
		Positief	Negatief	Positief	Negatief	Positief	Negatief	Positief	Negatief
PlexPCR [®] VHS ₍₅₅₀₎	Positief	83	1	70	1	47	1	21	0
	Negatief	2	341	0	356	0	379	0	406
Totaal		85	342	70	357	47	380	21	406
Gevoeligheid		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%)	
Specificiteit		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% betrouwbaarheidsinterval

Tabel 14. Analyse van klinische resultaten volgens type specimen					
Specimen	HSV-1	HSV-2	VZV	<i>T. pallidum</i>	Negatief
Genitaal	73/75	66/66	0/0	21/21	190/190
Anaal/rectaal	10/10	3/3	1/1	0/0	12/13
Niet-genitaal	0/0	0/0	46/46	0/0	0/0

16.1.2 Klinisch onderzoek 2

Het Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory (VIDRL) in Melbourne, Australië voerde een prospectieve-retrospectieve studie uit. De monsters werden verzameld van januari tot april 2018 en op basis van de klinische laboratoriumresultaten werden 156 M. genitalium-positieve en 54 opeenvolgende M. genitalium-negatieve monsters geselecteerd voor opname in het onderzoek. De 210 monsters bestonden uit 52 anale/rectale uitstrijkjes, 131 genitale uitstrijkjes, 2 genitale/anale/rectale uitstrijkjes, 1 genitaal/niet-genitaal uitstrijkje, 1 genitaal/niet-genitaal/oraal uitstrijkje, 3 genitaal/orale uitstrijkjes, 9 niet-genitale uitstrijkjes, 10 orale uitstrijkjes en 1 uitstrijkje met een niet-gespecificeerde plaats. De monsters werden geëxtraheerd met gebruik van het QIAcube HT (Qiagen) extractiesysteem met gebruik van de QIAamp 96 Virus QIAcube HT Kit en het QIAamp 96 Virus QIAcube HT.QSP protocol. Er werd 200 µL monster geëxtraheerd en het uiteindelijke elutievolume was 60 µL. De monsters werden getest in 20 µL reacties op het LC480 II-instrument met gebruik van de **PlexPCR**[®] VHS₍₆₁₀₎-kit.

De prestaties van de **PlexPCR**[®] VHS-kit werden door PHL Bristol vergeleken met de klinische laboratoriumresultaten van de in-house realtime PCR tegen VIDRL, waarbij het in-house resultaat werd beschouwd als het ware resultaat. De gevoeligheid en specificiteit van de **PlexPCR**[®] VHS-kit worden weergegeven in **Tabel 15**. De analyse van de resultaten volgens specimentype is weergegeven in **Tabel 16**.

Tabel 15. Vergelijking van de *PlexPCR*[®] VHS₍₆₁₀₎-kit en VIDRL in-house realtime PCR-assays

		VIDRL in-house realtime PCR assays							
		HSV-1 resultaat		HSV-2 resultaat		VZV resultaat		<i>T. pallidum</i> resultaat	
		Positief	Negatief	Positief	Negatief	Positief	Negatief	Positief	Negatief
<i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₁₀₎	Positief	56	2	48	2	2	0	50	0
	Negatief	0	152	2	158	0	208	0	160
Totaal		56	154	50	160	2	208	50	160
Gevoeligheid		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%)	
Specificiteit		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% betrouwbaarheidsinterval

Tabel 16. Analyse van klinische resultaten volgens type specimen

Specimen	HSV-1	HSV-2	VZV	<i>T. pallidum</i>	Negatief
Anaal/rectaal	16/16	13/13	0/0	9/9	15/15
Genitaal	34/34	31/32	1/1	31/31	33/34
Genitaal/anaal/rectaal	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0
Genitaal/niet-genitaal	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Genitaal/niet-genitaal/oraal	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0
Genitaal/oraal	0/0	0/0	0/0	3/3	0/0
Niet-genitaal	2/2	3/3	0/0	1/1	3/3
Oraal	4/4	0/1	0/0	3/3	2/2

16.2 Analytische prestaties

16.2.1 Reproduceerbaarheid en herhaalbaarheid

De reproduceerbaarheid en herhaalbaarheid van de *PlexPCR*[®] VHS-kit werd beoordeeld met behulp van een synthetisch sjabloon voor HSV-1, HSV-2, VZV en *T. pallidum* bij 3x LOD kopieën per reactie. De experimenten werden uitgevoerd op de 7500 Fast.

Om de variabiliteit tussen verschillende partijen te bepalen, werden twee partijen getest waarbij de runs op één machine door één operator werden uitgevoerd (Tabel 17). De twee partijen vertoonden een goede reproduceerbaarheid, met een variatiecoëfficiënt (%CV) tussen 1,56 en 1,94%.

Tabel 17. Variabiliteit tussen verschillende partijen

	Gemiddelde Cq	STDEV	%CV	Aantal monsters
HSV-1 12 kopieën	26,0	0,50	1,94	12/12
HSV-2 36 kopieën	25,0	0,43	1,71	12/12
VZV 48 kopieën	24,0	0,37	1,56	12/12
<i>T. pallidum</i> 24 kopieën	25,2	0,47	1,87	12/12

Om de variabiliteit tussen verschillende dagen te bepalen, werden op drie dagen tests uitgevoerd door één operator op hetzelfde apparaat (**Tabel 18**). De drie runs vertoonden een goede reproduceerbaarheid tussen de verschillende dagen, met een variatiecoëfficiënt (%CV) tussen 1,45 en 2,33%.

Tabel 18. Variabiliteit tussen verschillende dagen				
	Gemiddelde Cq	STDEV	%CV	Aantal monsters
HSV-1 12 kopieën	26,2	0,60	2,29	18/18
HSV-2 36 kopieën	24,7	0,36	1,45	18/18
VZV 48 kopieën	24,1	0,40	1,64	18/18
<i>T. pallidum</i> 24 kopieën	25,1	0,58	2,33	18/18

Om de variabiliteit tussen verschillende runs te bepalen, werden drie qPCR-runs vergeleken die op dezelfde dag door dezelfde operator werden uitgevoerd (**Tabel 19**). De drie runs vertoonden een goede reproduceerbaarheid, met een variatiecoëfficiënt tussen 0,88 en 2,05%.

Tabel 19. Variabiliteit tussen verschillende runs				
	Gemiddelde Cq	STDEV	%CV	Aantal monsters
HSV-1 12 kopieën	26,5	0,50	1,89	18/18
HSV-2 36 kopieën	24,7	0,22	0,88	18/18
VZV 48 kopieën	24,1	0,37	1,53	18/18
<i>T. pallidum</i> 24 kopieën	25,1	0,51	2,05	18/18

Om de variabiliteit tussen verschillende operators te bepalen, werden twee runs van twee operators met elkaar vergeleken (**Tabel 20**). De twee runs van de verschillende operators vertoonden een goede reproduceerbaarheid, met een variatiecoëfficiënt tussen 0,96 en 2,73%.

Tabel 20. Variabiliteit tussen verschillende operators				
	Gemiddelde Cq	STDEV	%CV	Aantal monsters
HSV-1 12 kopieën	25,9	0,71	2,73	12/12
HSV-2 36 kopieën	24,8	0,24	0,96	12/12
VZV 48 kopieën	24,1	0,45	1,86	12/12
<i>T. pallidum</i> 24 kopieën	25,2	0,30	1,18	12/12

Om de variabiliteit tussen verschillende instrumenten te bepalen, werden twee runs van twee machines, uitgevoerd door dezelfde operator, met elkaar vergeleken (**Tabel 21**). De runs van de verschillende instrumenten vertoonden een goede reproduceerbaarheid, met een variatiecoëfficiënt tussen 1,27 en 3,49%.

Tabel 21. Variabiliteit tussen verschillende instrumenten				
	Gemiddelde Cq	STDEV	%CV	Aantal monsters
HSV-1 12 kopieën	26,1	0,91	3,49	12/12
HSV-2 36 kopieën	24,9	0,32	1,27	12/12
VZV 48 kopieën	24,1	0,41	1,69	12/12
<i>T. pallidum</i> 24 kopieën	25,0	0,38	1,53	12/12

Om de variabiliteit binnen een run te bepalen, werden drie experimenten met elkaar vergeleken die door dezelfde operator werden opgezet en waarbij de run voor elke target op dezelfde plaat werd uitgevoerd (**Tabel 22**). De drie experimenten vertoonden een goede reproduceerbaarheid, met een variatiecoëfficiënt tussen 1,28 en 2,54%.

Tabel 22. Variabiliteit binnen een run				
	Gemiddelde Cq	STDEV	%CV	Aantal monsters
HSV-1 12 kopieën	25,9	0,66	2,54	18/18
HSV-2 36 kopieën	24,4	0,31	1,28	18/18
VZV 48 kopieën	24,3	0,42	1,74	18/18
<i>T. pallidum</i> 24 kopieën	25,0	0,37	1,47	18/18

16.2.2 Analytische gevoeligheid

De analytische gevoeligheid van de **PlexPCR**[®] VHS-kit op de 7500 Fast werd bepaald door het uitvoeren van reeksen met beperkte verdunning, met behulp van een synthetisch sjabloon voor HSV-1, HSV-2, VZV en *T. pallidum*. Voor elke target werd de gevoeligheid bepaald als het aantal kopieën per reactie met $\geq 95\%$ detectie weergegeven in **Tabel 23**.

Tabel 23. Analytische gevoeligheid	
	Analytische gevoeligheid (kopieën/reacties)
HSV-1	4
HSV-2	12
VZV	20
<i>T. pallidum</i>	8

16.2.3 Analytische specificiteit

De **PlexPCR**[®] VHS-kit werd specifiek ontworpen voor de targetorganismen door te controleren op homologie met niet-targetorganismen in openbare sequentiedatabases. Specificatietests voor geselecteerde organismen tonen geen kruisreactiviteit aan (**Tabel 24**). De experimenten werden uitgevoerd op de 7500 Fast.

Tabel 24. Analytische specificiteit		
Organisme	Herkomst	Testconcentratie (kopieën/reactie)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> stam FA 1090	ATCC	10 ⁶
<i>Mycoplasma hominis</i> , stam ZK-CU2	Vircell	10 ⁴
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Vircell	10 ⁴
<i>Chlamydia trachomatis</i> LGV, stam 434	Vircell	10 ⁴
<i>Ureaplasma parvum</i>	Klinisch isolaat	10 ⁴
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Klinisch isolaat	10 ⁴
<i>Haemophilus influenzae</i> , stam Rd KW20	ATCC	10 ⁶
<i>Neisseria meningitidis</i> , stam MC58	ATCC	10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i> , stam V583	ATCC	10 ⁶
<i>Escherichia coli</i> , stam Crooks	ATCC	10 ⁶
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , stam MGH78578	ATCC	10 ⁶
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , stam PAO1-LAC	ATCC	10 ⁶
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> , stam CM-1	Vircell	10 ⁴
<i>Streptococcus pneumoniae</i> , stam R6	ATCC	10 ⁶
<i>Haemophilus ducreyi</i> , stam 35000 HP	ATCC	10 ⁶
Humaan herpes virus 6	Vircell	10 ⁴
Epstein-Barr virus (Human herpes virus 4)	Vircell	10 ⁴
Cytomegalovirus (Humaan herpes virus 5)	Vircell	10 ⁴

16.2.4 Concurrerende interferentie

Voor het onderzoeken van competitieve interferentie, werd de targetdetectie door de **PlexPCR**[®] VHS-kit getest in kunstmatige monsters met simulatie van co-infecties. Detectie van synthetische matrijs voor HSV-1, HSV-2, VZV en *T. pallidum* op lage concentraties (3x LOD kopieën per reactie) werd vergeleken met de detectie in gemengde monsters die verrijkt waren met een hoge concentratie van een andere target. De experimenten werden uitgevoerd op de 7500 Fast. Alle targets werden correct gedetecteerd en er werd geen competitieve interferentie waargenomen (**Tabel 25**).

Tabel 25. Concurrerende interferentie							
Target in lage concentratie		Competitieve interferent (hoge concentratie)		Aantal gedetecteerde monsters			
Target	Concentratie (kopieën/reactie)	Target	Concentratie (kopieën/reactie)	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 Potentieel interfererende substanties

Het effect van stoffen die mogelijk interfereren met de **PlexPCR**[®] VHS-kit werd beoordeeld in kunstmatige monsters aan de hand van de Internal Control (interne controle), die de extractie en qPCR-remming bepaalt. Drie stoffen werden toegevoegd aan de negatieve monsters (alleen PBS), die geëxtraheerd zijn met de *Internal Control Cells* (Interne controlecellen). In aanwezigheid van de stoffen die de detectie niet beïnvloedden, werd een kleine verschuiving ($\Delta Cq < 0,5$) in het signaal voor de Internal Control (interne controle) waargenomen (**Tabel 26**).

Tabel 26. Potentieel interfererende substanties					
Stof	Concentratie	IC Gemiddelde Cq	STDEV	ΔCq	Aantal gedetecteerde monsters
--	--	26,6	0,78	--	4/4
Albumine	10 mg/mL	26,9	0,31	0,31	3/3
Volbloed	10% (v/v)	27,0	0,14	0,38	3/3
EDTA	3 mM	27,0	0,35	0,43	3/3

17 Klant- en technische ondersteuning

Neem contact op met de technische ondersteuning als u vragen hebt over de reactieopstelling, cyclusomstandigheden en andere vragen.

Tel.: +61 2 9209 4170, e-mail: tech@speedx.com.au

18 Referenties

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 Bijlage 1: LightCycler® 480 Instrument II

De volgende informatie is gebaseerd op *LightCycler® 480 Software (versie 1.5)*.

De **PlexPCR®** VHS₍₆₁₀₎ -kit bevat kleurstoffen voor het LightCycler® 480 Instrument II. De **PlexPCR®** Colour Compensation (kleurcompensatie) (catalogusnr. 90001)-kit moet worden uitgevoerd en toegepast voor LC480 II-analyse (zie **Rubriek 19.2**). Deze kit is op aanvraag leverbaar.

19.1 Het LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II) programmeren

Detectieformaat

Maak een aangepast **Detection Format (detectieformaat)**

Open Tools (tools openen) > Detection Formats (detectieformaten)

Maak een nieuw detectieformaat en noem dit 'SpeedX PlexPCR' (kan worden gemaakt tijdens het genereren van het SpeedX Colour Compensation-bestand (kleurcompensatie)) (zie **Afbeelding 2**).

Selecteer voor de **selectie van de filtercombinatie** het volgende (excitatie-emissie): zoals weergegeven in **Tabel 27**:

Tabel 27. Filtercombinaties*						
LC480 II	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

* Deze filtercombinaties zijn de standaardnamen voor de kanalen

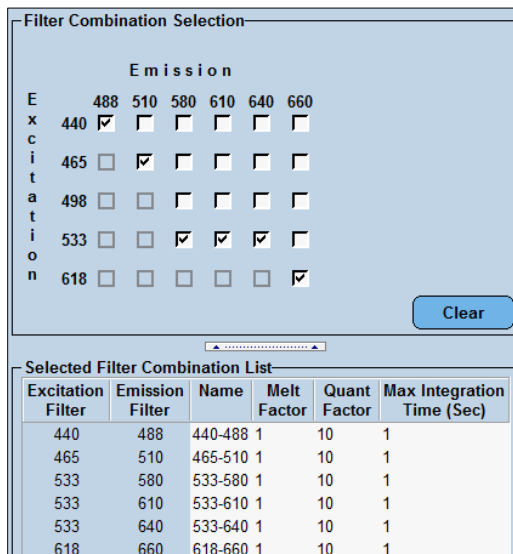
Stel de **Selected Filter Combination List (lijst met geselecteerde filtercombinaties)** voor alle kanalen in als:

Melt Factor (smeltfactor): 1

Quant Factor (kwantitatieve factor): 10

Max Integration Time (maximale integratietijd) (s): 1

Afbeelding 2. Aangepast SpeedX-detectieformaat



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	

Instrumentinstellingen

Maak een aangepast **Detection Format (detectieformaat)**

Open Tools (tools openen) > Instruments (instrumenten)

Voor **Instrument Settings (instrumentinstellingen) > selecteer Barcode Enabled (barcode ingeschakeld)**

Opstelling van het experiment

Selecteer **New Experiment (Nieuw Experiment)**

Op het tabblad **Run Protocol**

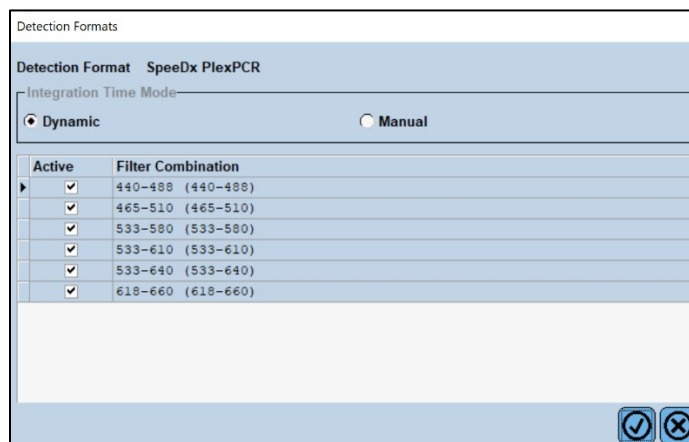
Selecteer voor **Detection Format** de aangepaste 'SpeedX PlexPCR' (**Afbeelding 3**)

Selecteer **Customize (Aanpassen)** >

Selecteer **Integration Time Mode > Dynamic (Integratietijdmodus > Dynamisch)**

Selecteer alle actieve **filtercombinaties** zoals weergegeven in **Afbeelding 3**.

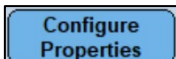
Afbeelding 3. Detectieformaat aanpassen



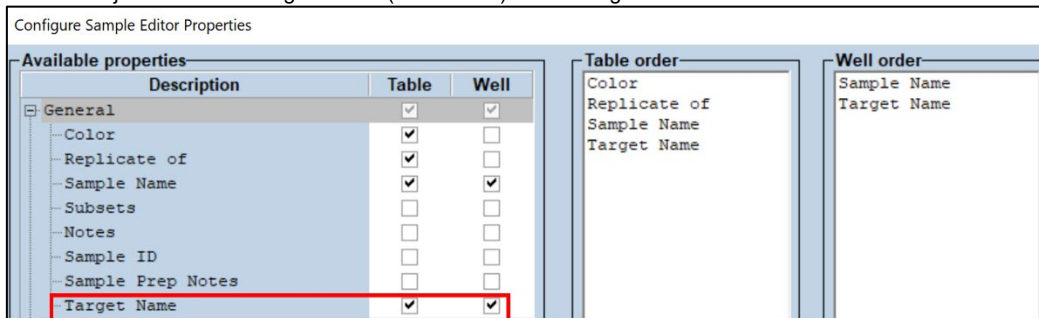
Om geautomatiseerde monsterdetectie in de analysesoftware mogelijk te maken, voegt u doelnamen toe en kent u naamlabls toe aan de putjes op de plaat

Open de module **Sample Editor**

Om doelnamen toe te voegen, selecteert u **Configure Properties**



Vink de vakjes aan naast 'Target Name' ('Doelnaam') en bevestig



Bewerk de **doelnaam** voor elk kanaal zodat deze overeenkomt met de Target Instrument Reference (referentie van het doelinstrument) die is gedefinieerd in het menu Lab Configuration > Assays (Lab Configuration > Testmenu) van de analysesoftware en wordt weergegeven in **Tabel 28**.

Tabel 28. Kanalen en doelnamen voor PlexPCR® VHS-doelen

Doelnaam	HSV-2	HSV-1	VZV	IC	<i>T. pallidum</i>
LC480 II-kanaal	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

Om nametags (naamlabels) toe te wijzen, selecteert u het putje

Bewerk de **Sample Name (monsternaam)** zodat deze overeenkomt met de naamlabel die is gedefinieerd in het Lab Configuration > Assays (Lab Configuration > testmenu) van de analysesoftware (zie **Rubriek 22.3**)

De monsters moeten worden gelabeld met de naamlabel als voorvoegsel. Voor de controlereacties worden standaard naamlabels gegeven (zoals weergegeven in **Tabel 29** en **Afbeelding 4**). Er kunnen aanvullende naamlabels worden gedefinieerd voor zowel gewone monsters als controles in de analysesoftware of bewerkte software die passen bij de instrumentsoftware.

Opmerking: De naamlabel moet exact overeenkomen met de namen die zijn toegewezen in het uitvoerbestand.

Tabel 29. Monster naamlabels voor analysesoftware	
Type monster	Standaard Voorvoegsel (in analysesoftware)
Gewoon monster	Geen standaard — door de gebruiker gedefinieerd
Negative Control	NC
Geen sjabloonbeheer	NTC
Positive Control (alle doelen) (Pa) Opmerking: Gebruik dit voor Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, Cat nr. 95007)	PA
Positive Control (HSV-1) (Pb)	PB
Positive Control (HSV-2) (Pc)	PC
Positive Control (VZV) (Pd)	PD
Positive Control (<i>T. pallidum</i>) (Pe)	PE

Afbeelding 4. Sample editor — Doelnamen en monsternaamlabels aan putjes toewijzen

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

Stel het **reactievolume** > 20 µL in

Maak het volgende programma in **Tabel 30** (in meer detail weergegeven in **Afbeelding 5 – Afbeelding 8**):

Tabel 30. Thermocycling-programma				
Naam van het programma	Cycli	Streefwaarde ° C	Vasthouden	Stijgingspercentage (°C/s) [≠]
Polymerase activation (Activering van polymerase)	1	95°C	2 min	4.4
Touch down cycling ^δ (Touchdown cyclus): Stepdown -0,5 ° C/cyclus	10	95°C	5 s	4.4
		61°C — 56,5°C ^δ	30 s	2.2
Quantification cycling ⁺ (Kwantificering cycli): Acquisitie/detectie	40	95°C	5 s	4.4
		52°C ⁺	40 s	2.2
Cooling (Koeling)	1	40 ° C	30 s	2.2

[≠] Standaard stijgingspercentage (plaat met 96 putjes)

^δ **Stapgrootte:** -0,5°C/Cyclus, **Sec doel:** 56°C

⁺ **Analysemodus:** Kwantificering, **acquisitiemodus:** Enkelvoudig

Afbeelding 5. Thermocycling-programma — Activering van polymerase

The screenshot shows the 'Programs' table with the following data:

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

The 'Polymerase activation Temperature Targets' table is also visible:

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

Afbeelding 6. Thermocycling-programma — Touchdown cyclus

The screenshot shows the 'Programs' table with the following data:

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

The 'Touchdown cycling Temperature Targets' table is also visible:

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

Afbeelding 7. Thermocycling-programma — Kwantificatie cycli

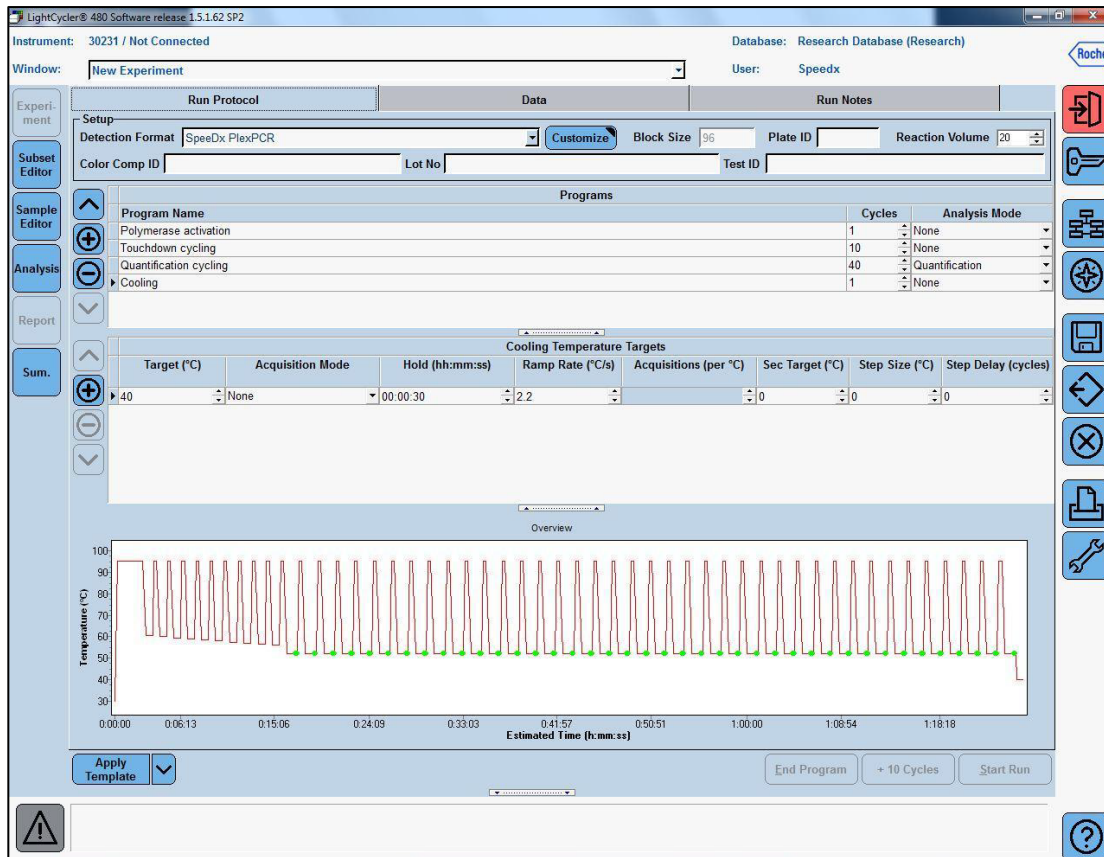
The screenshot shows the 'Programs' table with the following data:

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

The 'Quantification cycling Temperature Targets' table is also visible:

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

Afbeelding 8. Thermocyclingsprogramma — Koeling



LightCycler® 480 Software release 1.5.1.62 SP2

Instrument: 30231 / Not Connected Database: Research Database (Research)

Window: New Experiment User: Speedx

Run Protocol | Data | Run Notes

Setup

Detection Format: SpeedX PlexPCR **Customize** Block Size: 96 Plate ID: Reaction Volume: 20

Color Comp ID: Lot No: Test ID:

Programs

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

Cooling Temperature Targets

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

Overview

Temperature (°C) vs. Estimated Time (h:mm:ss)

Buttons: Apply Template, End Program, + 10 Cycles, Start Run

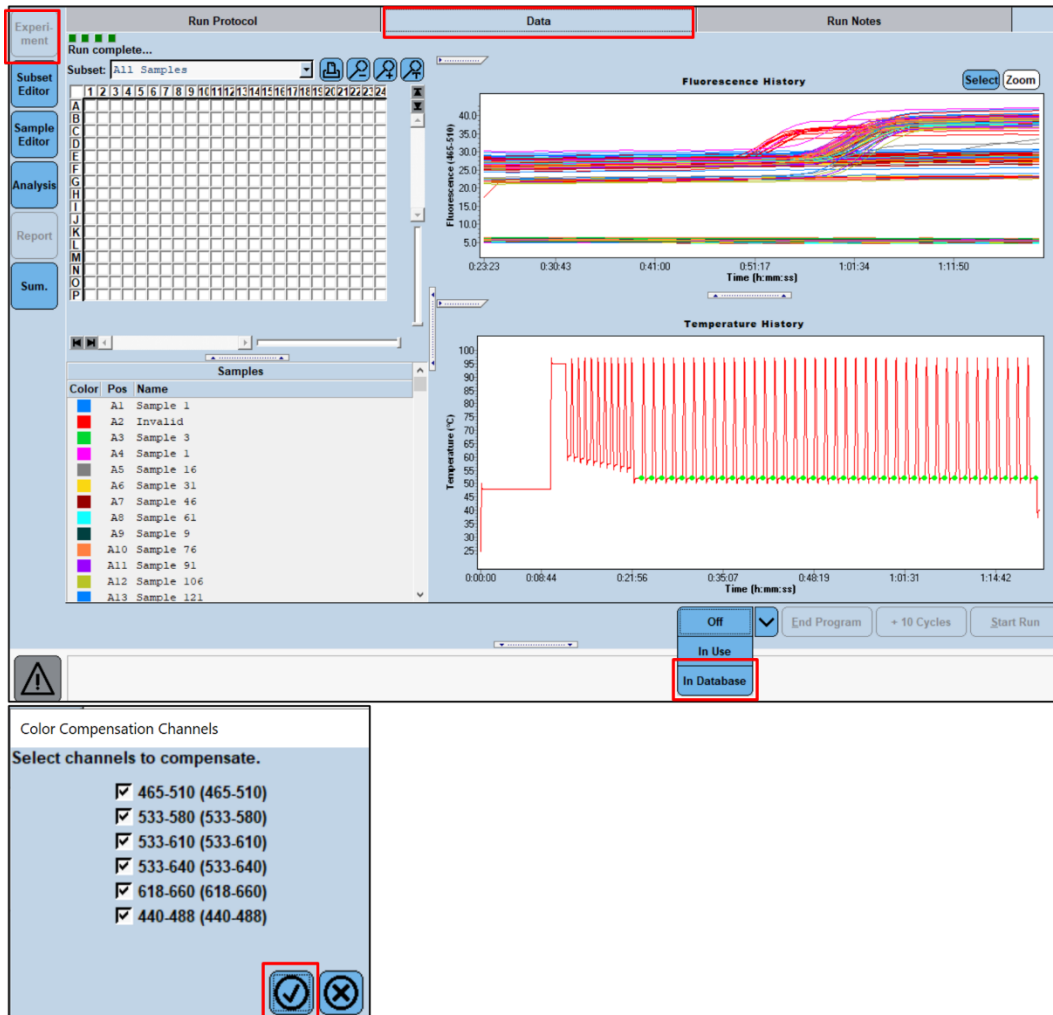
> Start run

Wanneer het cyclingprogramma is voltooid, voegt u het CC-object toe aan het uitvoerbestand zoals weergegeven in **Afbeelding 9** en exporteert u het als een .IXO-bestand voor analyse in de **PlexPCR®** VHS-analysesoftware. Raadpleeg de **Rubriek 19.2** voor instructies over hoe u het CC-object kunt maken en dit kunt opslaan in de LightCycler 480-softwaredatabase.

Selecteer **Experiment > Data (Experiment > Gegevens)**

Klik op de dropdownpijl naast **Colour Comp (Off)** en selecteer **In Database**

Afbeelding 9. Het CC-object aan het uitvoerbestand koppelen




The screenshot displays the SpeedX software interface during a run. The 'Data' tab is active, showing two plots: 'Fluorescence History' (top) and 'Temperature History' (bottom). The 'Fluorescence History' plot shows multiple colored lines representing different samples over time. The 'Temperature History' plot shows a red line for temperature fluctuations. The 'Samples' list is visible, showing 13 samples with their respective colors and names. The 'In Database' button is highlighted in red. A dialog box for 'Color Compensation Channels' is open, showing a list of channels with checkboxes and a 'vinkje' icon highlighted in red.


Color	Pos	Name
A1	Sample 1	
A2	Invalid	
A3	Sample 3	
A4	Sample 1	
A5	Sample 16	
A6	Sample 31	
A7	Sample 46	
A8	Sample 61	
A9	Sample 9	
A10	Sample 76	
A11	Sample 91	
A12	Sample 106	
A13	Sample 121	

Color Compensation Channels
Select channels to compensate.

- 465-510 (465-510)
- 533-580 (533-580)
- 533-610 (533-610)
- 533-640 (533-640)
- 618-660 (618-660)
- 440-488 (440-488)

Selecteer het juiste CC-object, zorg ervoor dat alle kanalen zijn geselecteerd en selecteer het pictogram **vinkje** 

Selecteer het pictogram **Save (Opslaan)** 

Selecteer het pictogram **Export (Exporteren)** 

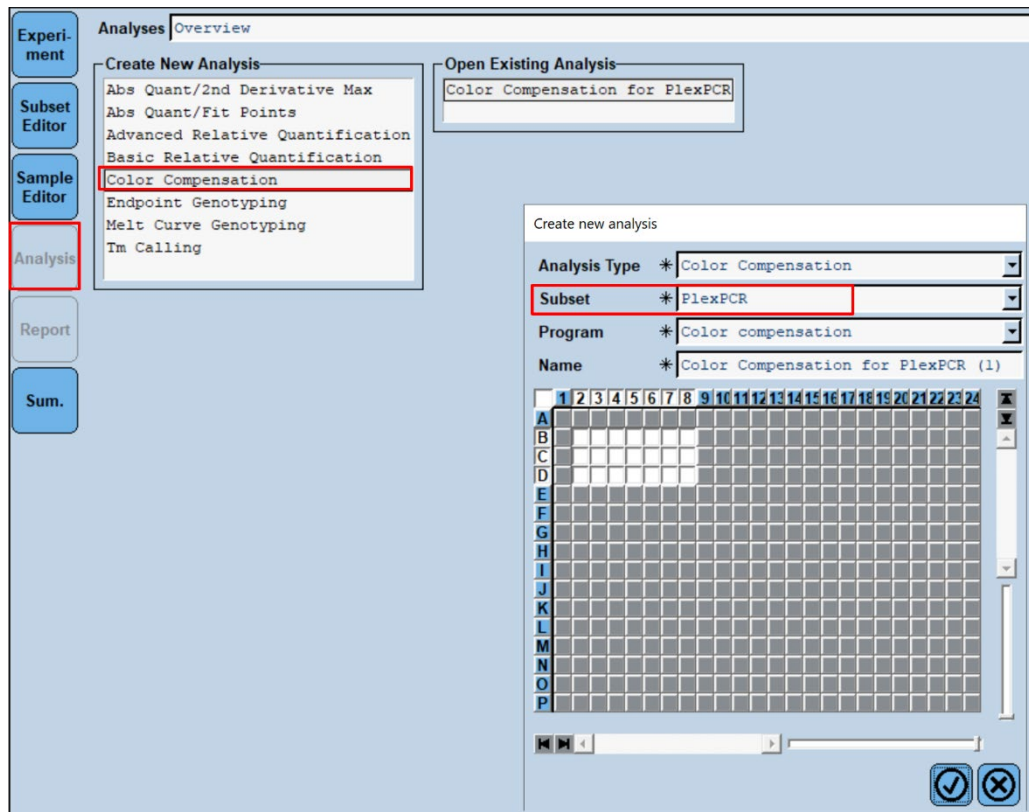
Opslaan op een gemakkelijk identificeerbare locatie

19.2 Kleurcompensatie voor LightCycler® 480 Instrument II

Opmerking: De *PlexPCR*® kleurcompensatiekit (Cat nr. 90001) moet worden gebruikt en toegepast voor LC480 II-analyse. Deze kit kan op aanvraag worden geleverd.

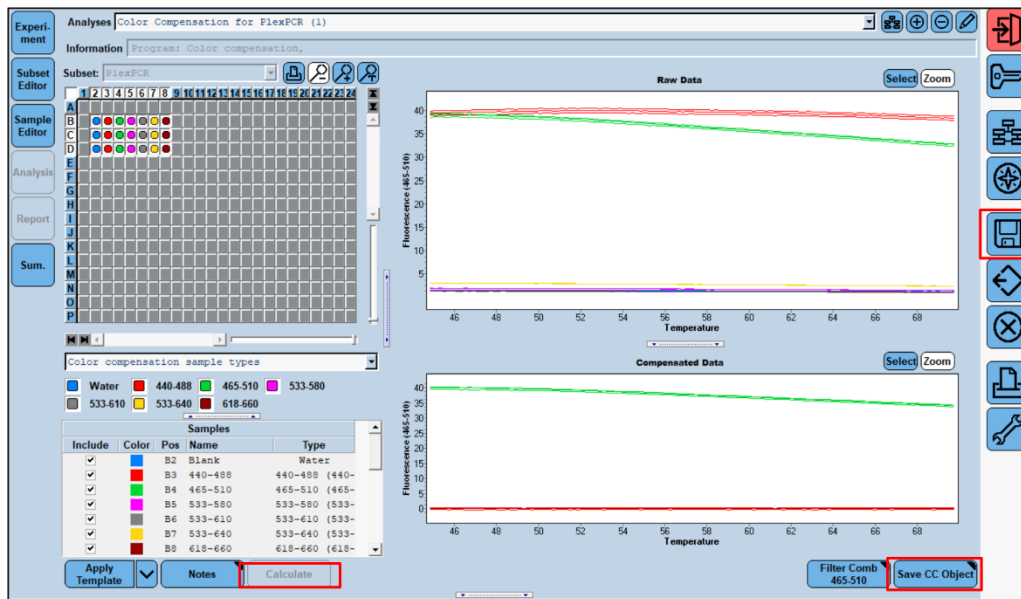
Analyseer het kleurcompensatiebestand via **Analysis > Colour Compensation (Analyse > Kleurcompensatie)** en selecteer de juiste subset, zoals weergegeven in **Afbeelding 10**.

Afbeelding 10. Analyse — Kleurcompensatie



Selecteer **Calculate Berekenen** (Afbeelding 11).

Afbeelding 11. CC-object berekenen en opslaan



Raadpleeg de gebruiksaanwijzingen voor kleurcompensatie van PlexPCR (IF-IV0001) voor meer informatie om er zeker van te zijn dat het kleurcompensatiebestand correct is aangemaakt.

Selecteer **Save (Opslaan)**



19.3 Interpretatie van resultaten

Voor de interpretatie van gegevens is de **PlexPCR**[®] VHS (LC480) analysesoftware vereist. De analysesoftware kan op verzoek geleverd worden. Neem contact op met tech@speedx.com.au voor meer informatie.

Raadpleeg de **Rubriek 22** voor instructies voor het gebruik van de **PlexPCR**[®] VHS (LC480) analysesoftware.

20 Bijlage 2: Applied Biosystems® 7500 Fast

De volgende informatie is gebaseerd op 7500 Software v2.3.

De **PlexPCR®** VHS₍₆₅₀₎ -kit bevat kleurstoffen voor de Applied Biosystems® (ABI) 7500 Fast. Er wordt gebruikgemaakt van standaard kleurstofkalibraties voor alle kanalen. Aangepaste kalibratie is niet nodig.

20.1 De Applied Biosystems® 7500 Fast programmeren

Selecteer **Advanced Setup** (geavanceerde instellingen)

Open in **Setup (instellingen) > Experiment Properties (eigenschappen van experiment)** en selecteer het volgende

Geef het experiment een naam

Instrument (instrument) > 7500 Fast (96 wells)

Type of experiment (soort experiment) > Quantitation (kwantificatie) – Standard Curve (standaardcurve)

Reagents (reagentia) > Other (overige)

Ramp Speed (toenametempo) > Standard (standaard)

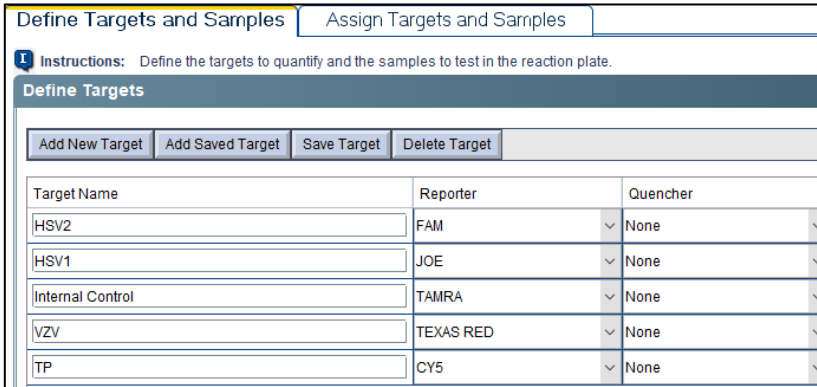
Open in **Setup (instellingen) > Plate Setup (instellingen plaat)**

Ga op het tabblad **Define Targets and Samples (doelen en monsters definiëren)** naar >

Definieer doelen zoals hieronder weergegeven in **Tabel 31** en **Afbeelding 12** (definieer kleuren zoals vereist)

Tabel 31. Define Targets (doelen definiëren)		
Doelnaam	Reporter	Quencher
HSV-2	FAM	None
HSV-1	JOE	None
VZV	Texas Red	None
IC	TAMRA	None
<i>T. pallidum</i>	Cy5	None

Afbeelding 12. Definieer doelen en monsters



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

Definieer monsters (definieer kleuren zoals vereist)

Om geautomatiseerde monsterdetectie in de analysesoftware mogelijk te maken, moet u ervoor zorgen dat de Target Name (doelnaam) (weergegeven in **Tabel 32**) overeenkomt met de referentie van het doelinstrument die is gedefinieerd in het **Configuration > Assays (Labconfiguratie > testmenu)** van de analysesoftware

Bovendien moeten er ook sample nametags (monsternaamlabels) worden toegewezen aan de putjes op de plaat

In **Setup > open Plate Setup**

Op het tabblad **Define Targets and Samples >**

Define Samples

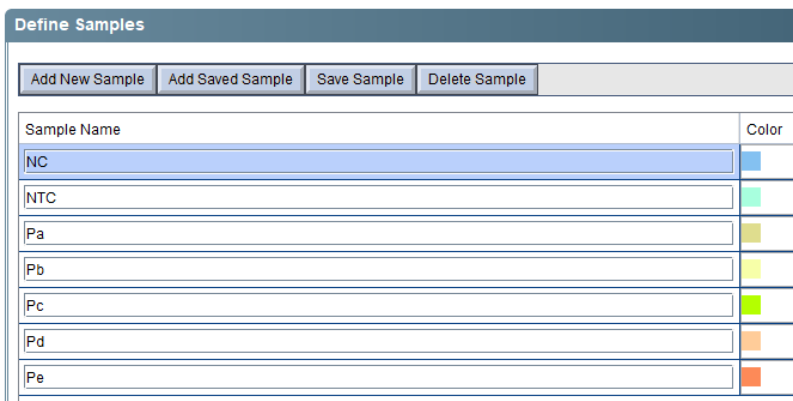
Bewerk **Sample Name (Monsternaam)** zodat deze overeenkomt met de naamlabel die is gedefinieerd in de **Lab Configuration > Assays (Lab Configuration > Testmenu)** van de analysesoftware (zie **Rubriek 22.3**)








De monsters moeten worden gelabeld met het naamlabel als voorvoegsel. **Voor de controlereacties worden standaard naamlabels gegeven (zoals weergegeven in Tabel 32 en Afbeelding 13).** Er kunnen aanvullende naamlabels worden gedefinieerd voor zowel gewone monsters als controles in de analysesoftware of bewerkte software die passen bij de instrumentsoftware.

Opmerking:. De naamlabel moet exact overeenkomen met de namen die zijn toegewezen in het uitvoerbestand.

Tabel 32. Monsternaamlabels voor analysesoftware	
PlexPCR® VHS (7500)	
Type monster	Standaard Voorvoegsel (in analysesoftware)
Gewoon monster	Geen standaard — door de gebruiker gedefinieerd
Negative Control	NC
Geen sjabloonbeheer	NTC
Positive Control (alle doelen) (Pa) Opmerking: Gebruik dit voor Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, Cat nr. 95007)	PA
Positive Control (HSV-1) (Pb)	PB
Positive Control (HSV-2) (Pc)	PC
Positive Control (VZV) (Pd)	PD
Positive Control (<i>T. pallidum</i>) (Pe)	PE

Afbeelding 13. Monsters definiëren — Doelnamen en monsternaamlabels aan putjes toewijzen



Sample Name	Color
NC	
NTC	
Pa	
Pb	
Pc	
Pd	
Pe	

In tabblad **Assign Targets and Samples** >

Selecteer putjes en wijs doelen en monsters toe aan de geselecteerde putjes

Selecteer **Passive reference** > None (Geen)

In **Setup** > open **Run Method**

Stel het **Reaction Volume Per Well** (reactievolume per putje) in > 20 µL

Maak het volgende programma in **Tabel 33** (in meer detail weergegeven in de grafische weergave (**Afbeelding 14** en **Afbeelding 15**), in tabelweergave (**Afbeelding 16**):

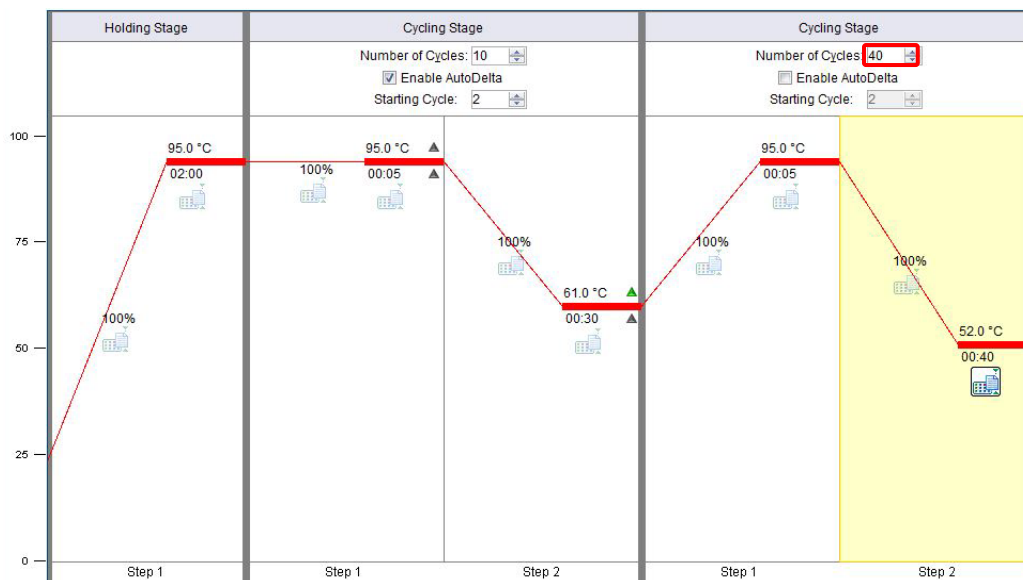
Tabel 33. Thermocycling Program (Thermocyclingprogramma)				
Programma naam	Cycles (cycli)	Target °C	Hold (duur)	Ramp (toename)*
Polymerase-activering	1	95°C	2 min	100%
Touch down cycling (touchdowncycli): Step down (stapsgewijze afname) -0,5°C/cyclus ⁵	10	95°C	5 s	100%
		61°C – 56,5 °C ⁵	30 s	100%
Quantification cycling (kwantificeringscycli)*: Acquisitie/detectie	40	95°C	5 s	100%
		52°C ⁺	40 s	100%

* Standaardtoename/-afname

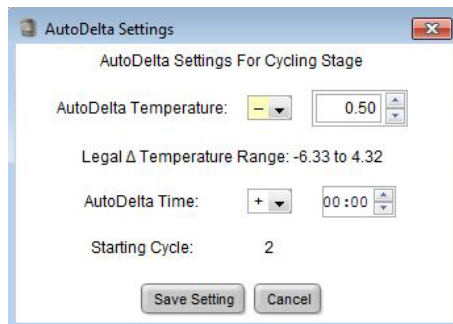
⁵ Enable AutoDelta (AutoDelta inschakelen): -0,5°C/cyclus

⁺ Collect data on hold (gegevens verzamelen opgeschort)

Afbeelding 14. Uitvoeringsmethode – Graphical View (grafische weergave)



Afbeelding 15. Uitvoeringsmethode – Graphical View (grafische weergave) – Enable AutoDelta (AutoDelta inschakelen)



Afbeelding 16. Uitvoeringsmethode – Tabular View (tabelweergave)

	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	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Collect Data on Hold	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Step 1	Step 1	Step 2	Step 1	Step 2

Open in **Setup (instellingen) > Run Method (run-methode)**

Selecteer **Start Run (run starten)**

20.2 Interpretatie van de resultaten

Voor data-interpretatie is de **PlexPCR® VHS (7500)** analysesoftware nodig. De analysesoftware is op aanvraag leverbaar. Neem voor meer informatie contact op via tech@speedx.com.au.

Zie **Rubriek 22** voor instructies voor het gebruik van de **PlexPCR® VHS (7500)** analysesoftware.

21 Bijlage 3: Bio-Rad CFX96 Dx™ en CFX96 Touch™ realtime PCR-systeem

De volgende informatie is gebaseerd op Bio-Rad CFX Manager v3.1

De **PlexPCR®** VHS₍₆₇₅₎-kit bevat kleurstoffen voor het CFX96 Real-Time PCR System. Er wordt gebruikgemaakt van standaard kleurstofkalibraties voor alle kanalen. Aangepaste kalibratie is niet nodig.

21.1 Het Bio-Rad CFX96 Dx en CFX96 Touch™ Real-Time PCR System programmeren

Selecteer **View (weergave)** > open **Run Setup (run instellen)**

In **Run Setup (run instellen)** > tabblad **Protocol (protocol)** > selecteert u **Create New (nieuwe maken)**

In de **Protocol Editor (Protocol-editor)** (zie **Afbeelding 17**):

Stel **Sample Volume (monstervolume)** in op > 20 µL

Maak het volgende thermocyclingprogramma in **Tabel 34** en sla het op als 'SpeedX PCR'. Dit protocol kan worden geselecteerd voor toekomstige uitvoeringen.

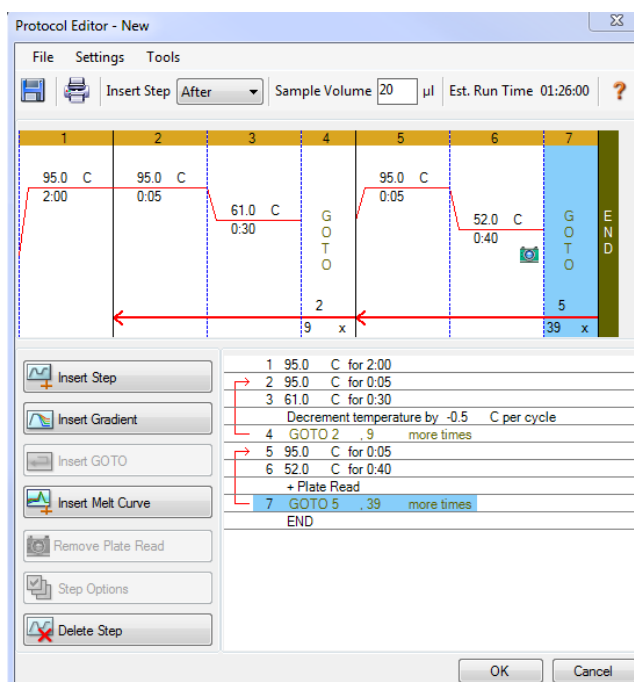
Voor touchdowncycli selecteert u stap 3 en selecteert u **Step options (stappenopties)** > Increment (toename): -0,5°C/cyclus (meer gedetailleerd weergegeven in **Afbeelding 18**).

Tabel 34. Thermocycling Program (Thermocyclingprogramma)			
Programmanaam	Cycles (cycli)	Target °C	Hold (duur)
Polymerase activation (Polymerase-activating)	1	95°C	2 min
Touch down cycling (touchdowncycli) ^δ : Step down (stapsgewijze afname) -0,5°C/cyclus	10	95°C	5 s
		61°C – 56,5°C ^δ	30 s
Quantification cycling (kwantificeringscycli) ⁺ : Acquisitie/detectie	40	95°C	5 s
		52°C ⁺	40 s

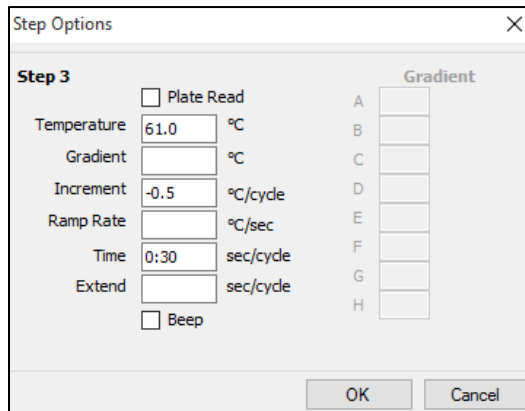
^δ **Step options (stappenopties)** > Increment (toename): -0,5°C/cyclus

⁺ **Add Plate Read to Step (plaat lezen toevoegen aan stap)**

Afbeelding 17. Protocol Editor



Afbeelding 18. Protocol Editor – Step Options (Stappenopties)



In **Run Setup (run instellen)** > tabblad **Plate (plaat)**

Selecteer **Create New (nieuwe maken)**

Selecteer **Settings (instellingen)** > **Plate Type (soort plaat)** > selecteer **BR Clear (BR transparant)**

Stel **Scan mode (scanmodus)** in op > All channels (alle kanalen)

Selecteer **Fluorophores (fluoroforen)** > FAM, HEX, Texas Red, Quasar 705, Cy5 (zie **Tabel 35**)

Selecteer wells die monsters bevatten, wijs het **Sample Type (monstertype)** toe en controleer **Load (belasting)** voor fluoroforen (FAM, HEX, Texas Red, Quasar 705, Cy5)

Sla de plaat op

Tabel 35. Kanalen voor PlexPCR® VHS-doelen

Doelnaam	HSV-2	HSV-1	VZV	Interne Controle	<i>T. pallidum</i>
CFX96 kanaal	FAM	HEX	Texas Red	Quasar 705	Cy5

In **Run Setup (run instellen)** > tabblad **Start Run (run starten)**

Selecteer blok

Start Run (run starten)

Om geautomatiseerde monsterdetectie in de analysesoftware mogelijk te maken, moet u ervoor zorgen dat de Target Name (doelnaam) en het kanaal (weergegeven in **Tabel 35**) overeenkomen met de Target Instrument Reference (referentie van het doelinstrument) die is gedefinieerd in het **Lab Configuration > Assays (Labconfiguratie > testmenu)** van de analysesoftware.

Bovendien moeten er ook monsternaamlabels worden toegewezen aan de putjes op de plaat

Open de module **Plate Setup**

Putje selecteren

Bewerk de **Sample Name (monsternaam)** zodat deze overeenkomt met de naamlabel die is gedefinieerd in de **Lab Configuration > Assays (Lab Configuration > testmodule)** van de analysesoftware (zie **Rubriek 22.3**)

De monsters moeten worden gelabeld met de naamlabel als voorvoegsel. Voor de controlereacties worden standaard naamlabels gegeven (zoals weergegeven in **Tabel 36** en **Afbeelding 19**). Er kunnen aanvullende naamlabels worden gedefinieerd voor zowel gewone monsters als controles in de analysesoftware of bewerkte software die passen bij de instrumentsoftware.

Opmerking: De naamlabel moet exact overeenkomen met de namen die zijn toegewezen in het uitvoerbestand.

Tabel 36. Monsternaamlabels voor analysesoftware

PlexPCR® VHS (CFX)	
Type monster	Standaard Voorvoegsel (in analysesoftware)
Gewoon monster	Geen standaard — door de gebruiker gedefinieerd
Negative Control	NC
Geen sjabloonbeheer	NTC
Positive Control (alle doelen) (Pa) Opmerking: Gebruik dit voor Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, Cat nr. 95007)	PA
Positive Control (HSV-1) (Pb)	PB
Positive Control (HSV-2) (Pc)	PC
Positive Control (VZV) (Pd)	PD
Positive Control (<i>T. pallidum</i>) (Pe)	PE

Afbeelding 19. Plate Editor — Doelnamen en monsternaamlabels aan putjes toewijzen

	1	2
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
	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
	Pos HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC Pe	Unk HSV-2 HSV-1 VZV T. pallidum IC Sample 3

21.2 Interpretatie van resultaten

Voor de interpretatie van gegevens is de **PlexPCR® VHS (CFX)** analysesoftware vereist. De analysesoftware kan op verzoek geleverd worden. Neem contact op met tech@speedx.com.au voor meer informatie.

Raadpleeg de **rubriek 22** voor instructies voor het gebruik van de **PlexPCR® VHS (CFX)** analysesoftware.

22 Bijlage A: Interpretatie van resultaten met behulp van *PlexPCR*[®] VHS-analysesoftware

Voor data-interpretatie is FastFinder met *PlexPCR*[®] VHS-analysesoftware nodig.

Zie **Tabel 37** voor de juiste analysesoftware voor het rapporteren van HSV-1, HSV-2, VZV en *T. pallidum* met de *PlexPCR*[®] VHS-kit. De analysesoftware is op aanvraag leverbaar. Neem voor meer informatie contact op via tech@speedx.com.au.

Tabel 37. Analysesoftware		
Catalogusnr.	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 en CFX96 Touch

* Raadpleeg de website <https://www.plexpcr.com/plexpcr-vhs/resources> om na te gaan of u de nieuwste versie van de analysesoftware gebruikt.

OPMERKING: Voor de overdracht, rapportage en opslag van resultaten moeten standaard laboratoriumpraktijken worden gevolgd om verlies van monsterinformatie te voorkomen.

22.1 FastFinder-platform — Minimale IT-vereisten

De analysesoftware is beschikbaar binnen het FastFinder-platform (<https://www.ugentec.com/fastfinder/analysis>). Het wordt aanbevolen dat klanten toegang krijgen tot het softwareplatform via een veilig en vertrouwd netwerk en computer. De minimale IT-vereisten voor toegang tot en gebruik van het FastFinder-platform worden hieronder vermeld.

Hardwarevereisten

Internetverbinding Kabel of DSL

Min. schermresolutie: 1366x768 pixels , optimaal 1920 x 1080 pixels of hoger

Ondersteunde browsers

- Microsoft Edge 88 of nieuwer
- Firefox 83 of nieuwer
- Google Chrome 88 of nieuwer.

Firewall-vereisten

De volgende hosts moeten bereikbaar zijn via HTTPS (poort 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
- *.pbidldicated.windows.net

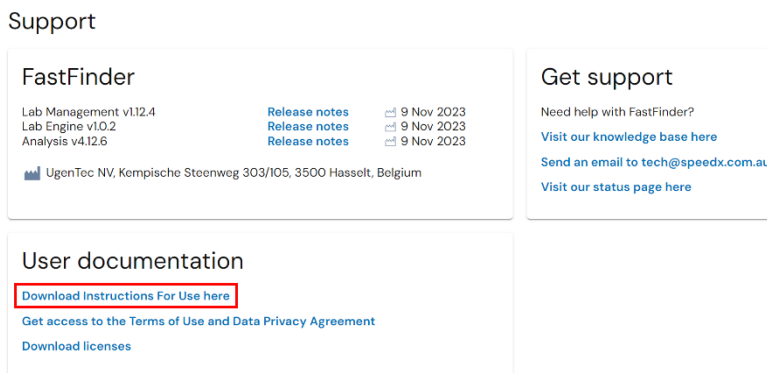
*.content.powerapps.com

Indien nodig moeten voor deze hosts firewall-uitzonderingen worden geconfigureerd. Om toegang te krijgen tot alle inhoud van in-app-gebruikershandleidingen, moet de host *.player.vimeo.com ook bereikbaar zijn.

Voor meer gedetailleerde instructies op het **FastFinder**-platform, zie de **FastFinder-gebruiksaanwijzingen** die toegankelijk zijn via het **support menu**.

Om toegang te krijgen tot het **support menu**

- Selecteer **Support** in de lijst met menu-opties op het zijpaneel links
- Selecteer **hier** in de rubriek Gebruikersdocumentatie de optie **Download Instructions For Use here (Gebruiksaanwijzingen downloaden)**



22.2 Test plug-in (nieuwe gebruiker)

Raadpleeg de **FastFinder-gebruiksaanwijzingen** voor gedetailleerde instructies voor het instellen van testen, toegankelijk via het ondersteuningsmenu.

FastFinder is rechtstreeks toegankelijk via een webbrowser door in te loggen met uw unieke gebruikersnaam en wachtwoord op <https://customer.fastfinder.app>.

- Selecteer **Lab Configuration > Assays** in het menu aan de linkerkant
- Selecteer **Add New Assay**
 - > Voor LC480 II > Selecteer **PlexPCR VHS (LC480)** uit de lijst
 - > Voor 7500 Fast > Selecteer **PlexPCR VHS (7500)** uit de lijst
 - > Voor CFX96 Dx en CFX96 Touch > Selecteer **PlexPCR VHS (CFX)** uit de lijst
- Selecteer **Import Selected**



Om versies van de test plug-in te activeren of te deactiveren

- > Op het tabblad **General**
- > Navigeer naar de status
- > Selecteer Active om de versie van de test te activeren of te deactiveren

22.3 Monsternaamgeving

Aan een test plug-in kunnen monsternaamlabels worden toegewezen om de detectie van putjes en monstertypen voor analyse te automatiseren.

Selecteer **Lab Configuration > Assays (Labconfiguratie > Tests)** in het menu aan de linkerkant

- Navigeer op het tabblad **General** naar de tabel van naamlabels (prefix) en **Sample types (monstertypes)** en selecteer  om een nieuw naamlabel toe te voegen
 - > Voeg het gewenste woord, acroniem of letter toe aan het tekstvak
 - > Voor de controles zijn standaard naamlabels beschikbaar. Deze kunnen worden verwijderd door de x  naast de naamlabel te selecteren
- Wijs in de instrumentsoftware (voor of nadat de uitvoering is voltooid) dezelfde naamlabel toe aan de juiste putjes
 - > Voor **LC480 II**, zie de **Rubriek 19** voor instructies over het programmeren van monsternaamlabels in het uitvoerbestand
 - > Voor **7500 Fast**, zie de **Rubriek 20** voor instructies over het programmeren van monsternaamlabels in het uitvoerbestand
 - > Voor **CFX96, Dx** en **CFX96 Touch**, zie de **Rubriek 21** voor instructies over het programmeren van monsternaamlabels in het uitvoerbestand.

OPMERKING: Monsternaamlabels zijn hoofdlettergevoelig. De naamlabel moet exact overeenkomen met de namen die zijn toegewezen in het uitvoerbestand.

22.4 Analyse

Selecteer **Analyses** in het menu aan de linkerkant om een nieuwe analyse te starten

Selecteer **+ Create New Analysis (Nieuwe analyse aanmaken)** in de rechterbovenhoek van het scherm

Zoek naar het bestand dat moet worden geüpload voor analyse vanuit een bepaalde map

- Selecteer het uitvoerbestand (data) in de relevante map
 - > Selecteer **Open**

De analyse verschijnt op het **tabblad Open (Openen)** als een nieuwe regel in de tabel.

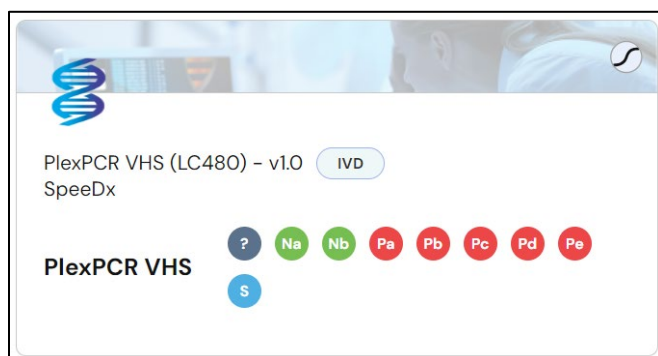
- Als alle naamlabels zijn toegepast en correct zijn gelezen, verschijnt de status als **Ready for review (Klaar voor beoordeling)**
- Als de testinformatie handmatig aan de putjes moet worden toegewezen, verschijnt de status als **Manual PCR setup required (Handmatige PCR-instelling vereist)**

Wijs de testinformatie handmatig aan de plaat toe als de naamgeving van de monsters niet is ingesteld in het menu **Lab Configuration > Assays (Labconfiguratie > Tests)** of als de monsternamen/doelen niet zijn toegepast in de instrumentsoftware

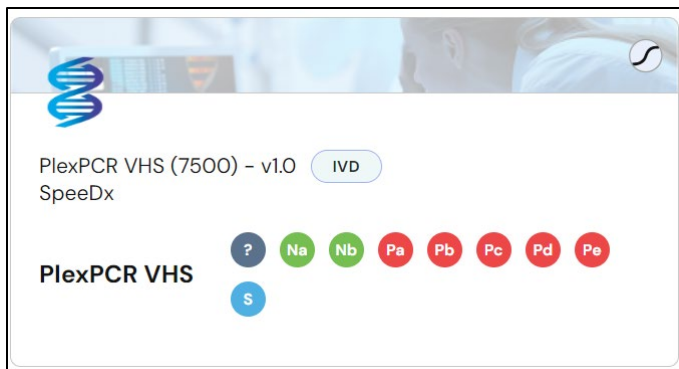
Selecteer het uitvoerbestand op het **tabblad Openen** in het menu **Analyses**

De plaatconfiguratie wordt weergegeven op het **tabblad PCR-instellingen** voor de open analyse

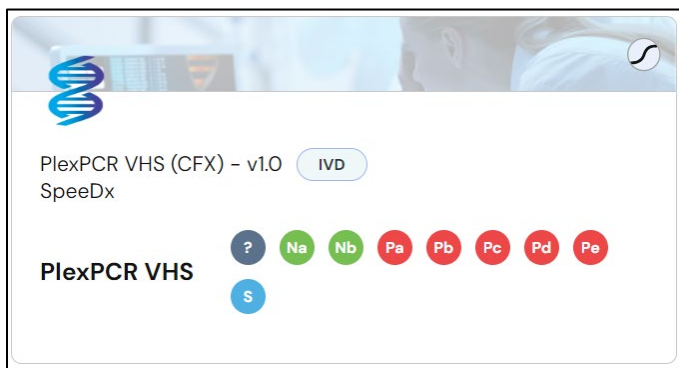
- Voor **LC480 II** > Selecteer **PlexPCR VHS (LC480)**



- Voor **7500 Fast** > Selecteer **PlexPCR VHS (7500)**



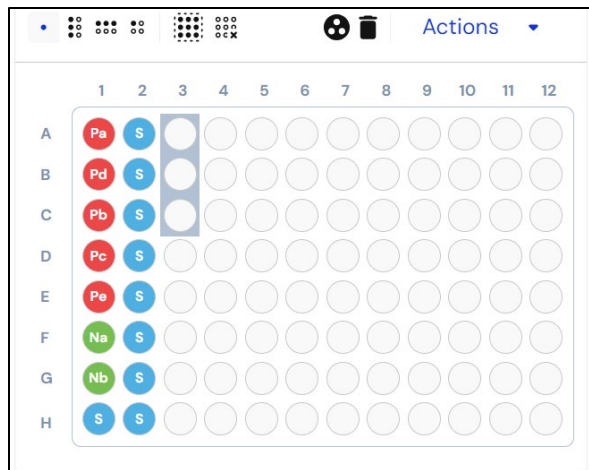
- Voor **CFX96 Dx** en **CFX96 Touch** > Selecteer **PlexPCR VHS (CFX)**



- Selecteer putjes en wijs ze toe als:
 - > Normaal monster (S)
 - > Negatieve Controle (Na)
 - > Geen sjabloonbeheer (Nb)
 - > Positive Control (alle doelen) (Pa) — gebruik dit voor Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, Cat nr. 95007)
 - > Positive Control (HSV-1) (Pb)
 - > Positive Control (HSV-2) (Pc)
 - > Positive Control (VZV) (Pd)
 - > Positive Control (*T. pallidum*) (Pe)

Om putjes op de plaat toe te wijzen, moet u ofwel:

- op de gekleurde symbolen klikken en ze verslepen naar de plaat
- een of meerdere putjes selecteren (gebruik de toetsen Ctrl en Shift) en klik vervolgens op de relevante gekleurde symbolen om deze aan de selectie toe te wijzen.



- Selecteer **Analyseren**

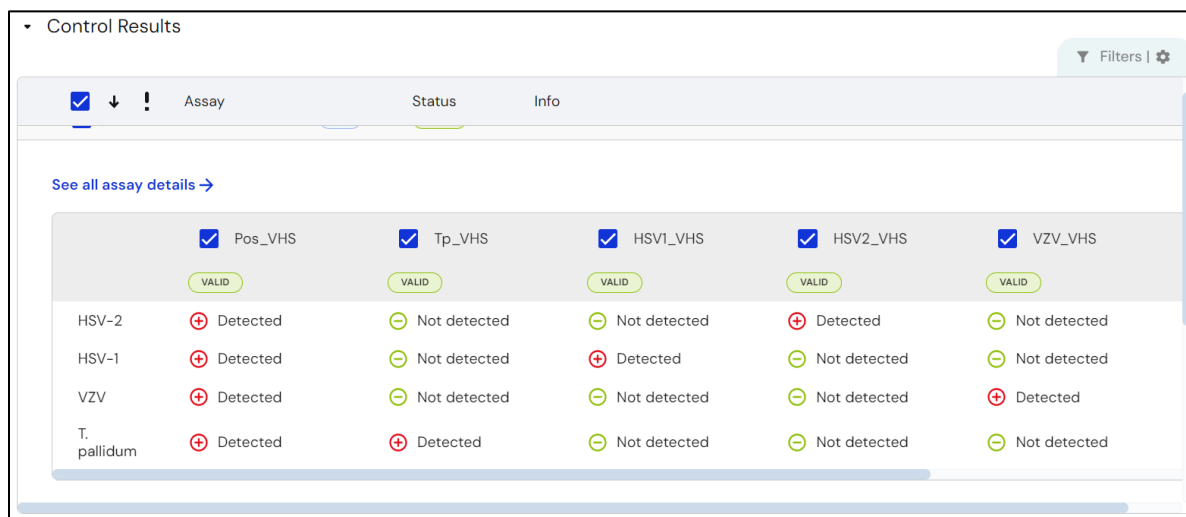
22.5 Resultaten

Zie **Tabel 39** voor een samenvatting van mogelijke gerapporteerde monsterresultaten.

Opmerking: Het wordt ten zeerste aanbevolen om de amplificatiecurven visueel te inspecteren en te bevestigen voor alle positieve monsters.

22.5.1 Tabblad Summary Samenvatting

De controleresultaten voor elke test worden linksboven op het tabblad Samenvatting weergegeven, zodat de betrouwbaarheid van de controle voor de uitvoering kan worden beoordeeld. Meer details zijn te vinden door dit blok uit te klappen, waarbij de details per controle worden weergegeven.










Als een controle onbetrouwbaar is, kunnen alle monsters als mislukt worden gemarkeerd door **Fail all samples for this assay (Fail all samples voor this assay)** te selecteren

Fail all samples for this assay





Failure reason ▼










Er moet een reden voor een fout worden gekozen in het dropdown menu

De monsterresultaten worden linksonder op het tabblad Samenvatting weergegeven. Naast de koptekst kunnen extra pictogrammen een hoogwaardig overzicht van de analyseresultaten en ook het totale aantal monsters aangeven dat overeenkomt met een bepaald pictogram.

	• 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

Elk monster wordt weergegeven als een regel in de tabel met monsterresultaten.

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+ |< < > >|

Het dropdown menu biedt meer details over elk doelresultaat en Cq per monster (zie de voorbeelden in **Rubriek 22.10**).

Individuele monsters kunnen desgewenst als mislukt worden gemarkeerd (bijvoorbeeld als het monster ongeldig is) door Fail this sample te selecteren **Fail this sample for this assay (voor deze test)**

Fail this sample for this assay

Failure reason ▼

Er moet een reden voor een fout worden gekozen in het dropdown menu

Fluorescentiegrafieken kunnen rechtsboven op het tabblad Samenvatting worden bekeken

Een plaatindeling kan rechtsonder op het tabblad **Summary** worden bekeken

Voorbeeldinformatie en waarschuwingmeldingen worden hieronder samengevat in **Tabel 38**.

Tabel 38. Voorbeeldinformatie en waarschuwingmeldingen voor de PlexPCR® VHS-analysesoftware*		
Monstertype	Fout	Melding
Meldingen over testdoelen		
Gewoon monster	Ongeldig — IC-fout	Warning: IC invalid. Re-extract and re-test sample.
	Geldig maar controle ongeldig — Ongeldige controlewaarschuwing bij normaal monster met geldig resultaat	Warning: Invalid control present. Re-extract and re-test the sample.
Negative Control	Ongeldig - Verontreiniging	Warning: Possible contamination detected.
Geen sjabloonbeheer		
Meldingen over gendoelen		
Gewoon monster	Doel Cq buiten de grenswaarde	Info: Cq outside cutoff
Positive Control	Ongeldig — Doel niet gedetecteerd	Warning: Expected reaction did not occur in control.
Negative Control	Ongeldig - Verontreiniging	Warning: Possible contamination
	Ongeldig — IC niet gedetecteerd	Warning: IC not detected
	Ongeldig — IC Cq buiten de grenswaarde	Warning: Cq outside cutoff
Geen sjabloonbeheer	Ongeldig - Verontreiniging	Warning: Possible contamination
Gewoon monster of controle	Onzeker fluorescentiesignaal	Warning: Uncertain fluorescence signal. Review required.
	Cq gedetecteerd met lage fluorescentie	dRn end fluorescence below cut-off

* De hier vermelde monsters zijn mogelijk niet van toepassing op alle test plug-ins. Raadpleeg de FastFinder-gebruiksaanwijzing voor alle mogelijke meldingen, toegankelijk via het ondersteuningsmenu

22.5.2 Details Tabblad

Alle doelen worden voor elk monster in afzonderlijke regels weergegeven in de tabel aan de linkerkant. Als u een of meer regels selecteert, worden de corresponderende fluorescentiecurven in de grafiek rechtsboven weergegeven en worden ook de putjes in de plaatindeling gemarkeerd die rechtsonder wordt weergegeven.


Selecteer **Filters** om resultaten weer te geven op basis van parameters zoals de naam van de test, het monstertype, het doel en het resultaat.

Om de analyse te voltooien en verdere wijzigingen voor gebruikers te voorkomen

- > Selecteer **Authorize**
- > Selecteer nogmaals **Authorize (Autoriseren)** om te bevestigen
- Om een tweede beoordeling toe te wijzen
 - > **Actions (Acties)** selecteren, **Assign label (label toewijzen)** en **Second Review (tweede beoordeling)**
- Om de analyse aan een andere gebruiker toe te wijzen
 - > **Actions (Acties)** selecteren en **Assign User (gebruiker toewijzen)**
 - > Selecteer de juiste gebruiker in de dropdown lijst
- Om de analyse te verwerpen
 - > **Actions (Acties)** selecteren en **Discard Analysis (analyse verwijderen)**
 - > Voeg een opmerking toe en selecteer **Discard (Verwijderen)** om te bevestigen

22.6 Referentiecurve

Een referentiecurve kan worden opgeslagen en gebruikt om monsters op dezelfde of op verschillende platen te vergelijken

- Selecteer het betreffende monster op het tabblad **Summary (Samenvatting)** of **Details**
- In het menu met de **Amplification graph** (amplificatiegrafiek) > Selecteer 
 - > Vink de gewenste curve aan en selecteer **Mark as reference (Markeren als referentie)**

Deze referentiecurve verschijnt nu gekoppeld aan de test in het menu **Lab Configuration > Assays (Labconfiguratie > Tests)** op het **tabblad PCR** en kan op elk moment worden gedeactiveerd.

22.7 Resultaten exporteren

- Om resultaten van een individuele geautoriseerde uitvoer te exporteren als een CSV- of PDF-bestand:
 - > Selecteer **Actions (Acties) > Downloads** in de rechterbovenhoek
 - > Selecteer een van de volgende rapporttypen: **Analyse (CSV)** of **Analyse (PDF)**
- Om resultaten van meerdere eerder geautoriseerde uitvoeren te exporteren als één CSV-bestand:
 - > Navigeer naar het **Archive > Sample Results (Archief > Monster Resultaten)** menu
 - > Gebruik de filters bovenaan de pagina om de gewenste resultaten weer te geven (het CSV-bestand is beperkt tot maximaal 10.000 resultaten)
 - > Selecteer **CSV Export (exporteren)** in de rechterbovenhoek

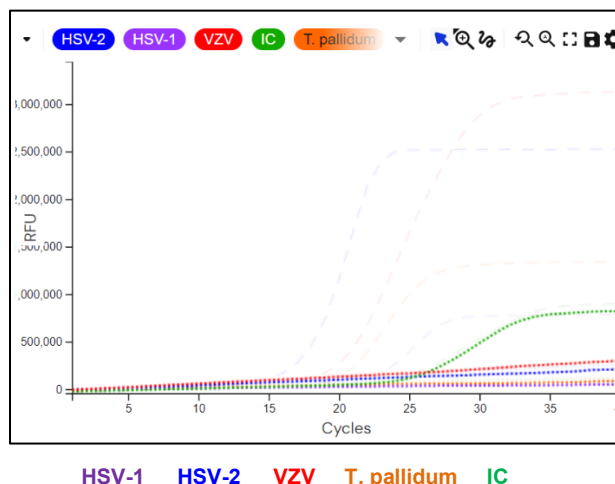
22.8 Geautoriseerde analyses ophalen

- Alle geautoriseerde analyses zijn beschikbaar door **Archive > Analysis Results (Archiveren > Analyseresultaten)** te selecteren. Selecteer een regel om terug te keren naar het resultatenoverzicht voor die specifieke analyse
- Alle geautoriseerde gewone monsters worden opgeslagen in het menu **Archive > Sample Results (Archief > Monsterresultaten)**. Als u een monster selecteert, wordt aanvullende informatie weergegeven, waaronder de naam van de analyse en de details van het resultaat.
- De individuele doelresultaten voor alle geautoriseerde gewone monsters en controles worden opgeslagen in het menu **Archive > Target Results (Archief > Doelresultaten)**. Als u een doel selecteert, wordt dit in de fluorescentiegrafiek duidelijk weergegeven. Als u de Analysenaam selecteert, keert u terug naar het resultatenoverzicht voor die specifieke analyse.

22.9 Voorbeeldgrafieken van controle

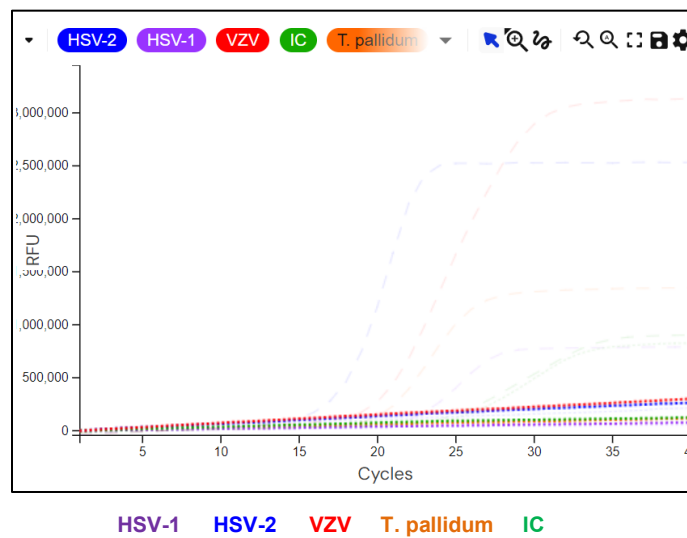
De volgende voorbeelden tonen de amplificatiecurven (baseline-gecorrigeerde amplificatiecurven) en het resultatenoverzicht van de **PlexPCR VHS (7500)** analysessoftware voor controle van monstertypen.

22.9.1 Negative Control (Na)



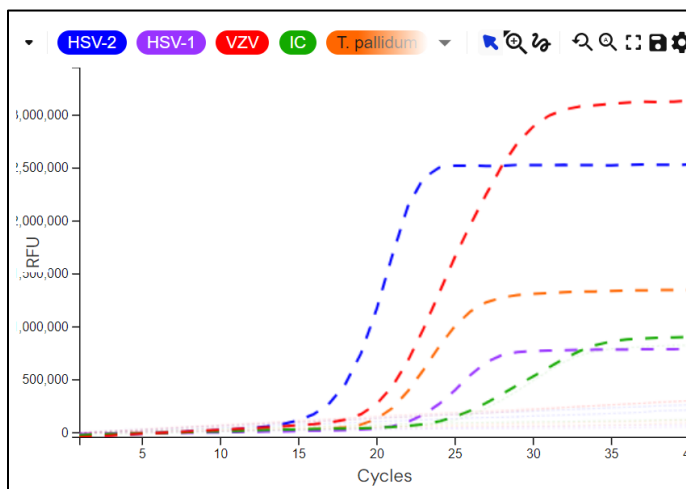
Monster	Test	Resultaat
Na	PlexPCR VHS (7500)	Valid
	HSV-2	⊖ Not detected
	HSV-1	⊖ Not detected
	VZV	⊖ Not detected
	T. pallidum	⊖ Not detected

22.9.2 Geen sjabloonbeheer (Nb)



Monster	Test	Resultaat
Nb	PlexPCR VHS (7500)	Valid
	HSV-2	⊖ Not detected
	HSV-1	⊖ Not detected
	VZV	⊖ Not detected
	T. pallidum	⊖ Not detected

22.9.3 Positive Control (alle doelen) (Pa)



HSV-1 HSV-2 VZV T. pallidum IC

Monster	Test	Resultaat
Pa	PlexPCR VHS (7500)	Valid
	HSV-2	⊕ Detected
	HSV-1	⊕ Detected
	VZV	⊕ Detected
	T. pallidum	⊕ Detected

22.10 Voorbeelden

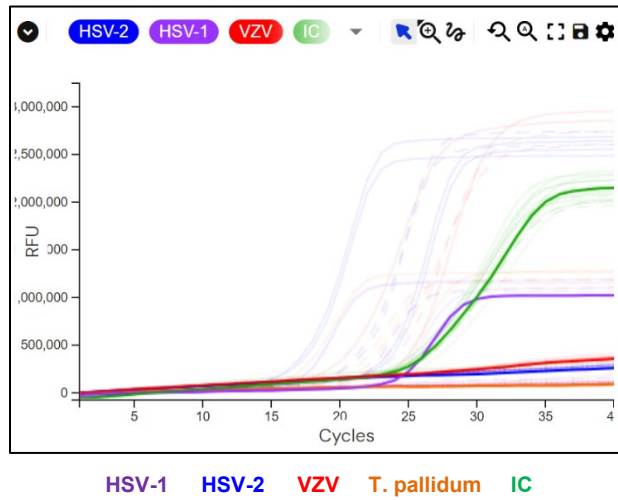
Voorbeeldresultaten voor de **PlexPCR®** VHS-analysesoftware zijn weergegeven in **Tabel 39**

Tabel 39. Voorbeeldresultaten voor de interpretatie van PlexPCR® VHS-analysesoftware			
	Monster	Test	Resultaat
	Monster 101	PlexPCR VHS (7500)	Not detected
	Monster 102	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-2
	Monster 103	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-1
	Monster 104	PlexPCR VHS (7500)	Detected: VZV
	Monster 105	PlexPCR VHS (7500)	Detected: T. pallidum
¹	Monster 106	PlexPCR VHS (7500)	Invalid: HSV-2, HSV-1, VZV, T. pallidum

¹ Een voorbeeld dat als Ongeldig wordt geïnterpreteerd, wordt aangeduid met

De volgende monsterresultaten tonen lineaire baseline-gecorrigeerde amplificatiecurven en het resultatenoverzicht van de **PlexPCR® VHS (7500)** test plug-in.

22.10.1 Voorbeeld 1. Positief monster - enkelvoudig doelwit gedetecteerd

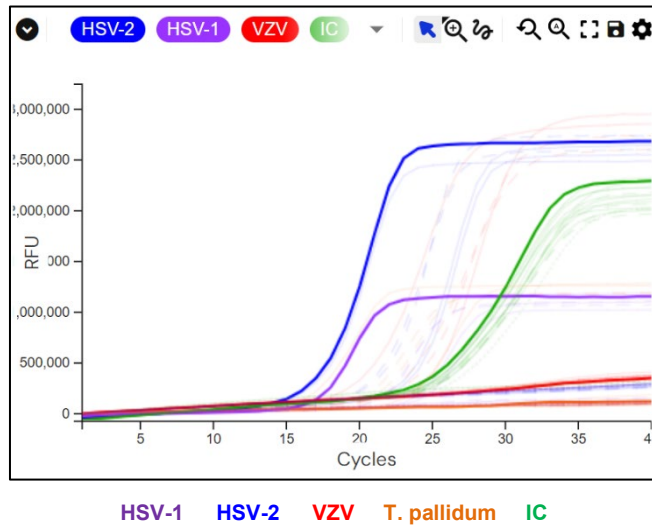


Monster	Test	Resultaat
Monster 107	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-1

Assay results	
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

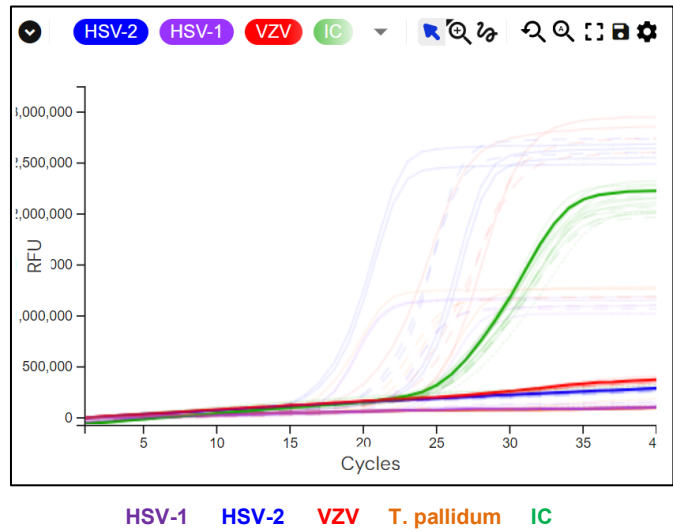
22.10.2 Voorbeeld 2. Positief monster — meerdere doelen gedetecteerd



Monster	Test	Resultaat
Monster 108	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-2, HSV-1

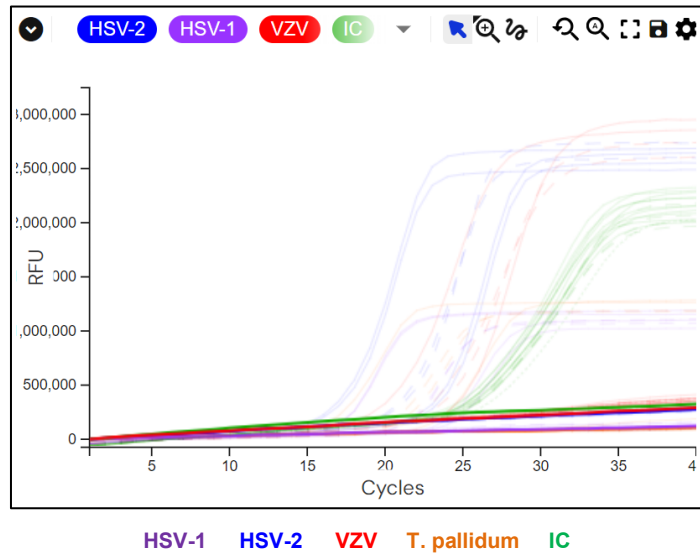
Assay results	Target	Result	Value
HSV-2	+	Detected	17.277
HSV-1	+	Detected	16.924
VZV	-	Not detected	
T. pallidum	-	Not detected	

22.10.3 Voorbeeld 3. Negatief monster



Monster	Test	Resultaat																							
Monster 109	PlexPCR VHS (7500)	Not detected																							
<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>⊖ Not 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>HSV-2</td> <td>↳ C2</td> <td>● Not detected</td> </tr> <tr> <td>HSV-1</td> <td>↳ C2</td> <td>● Not detected</td> </tr> <tr> <td>VZV</td> <td>↳ C2</td> <td>● Not detected</td> </tr> <tr> <td>IC</td> <td>↳ C2</td> <td>● Detected 25.869</td> </tr> <tr> <td>T. pallidum</td> <td>↳ C2</td> <td>● Not detected</td> </tr> </table> </div> </div>			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
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 Voorbeeld 4. Ongeldig monster



Monster	Test	Resultaat
Monster 110	PlexPCR VHS (7500)	Invalid: HSV-2, HSV-1, VZV, T.pallidum

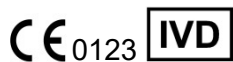
Assay results

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 Woordenlijst



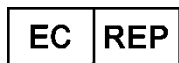
Europese conformiteit
Voor *in-vitro* diagnostiek



Catalogusnummer



Batchcode



Geautoriseerde vertegenwoordiger
In de Europese Gemeenschap



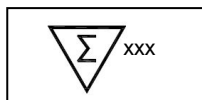
Fabrikant



Aanmaakdatum



Temperatuurbepering



Bevat voldoende voor
xxx bepalingen



Uiterste gebruiksdatum



Europese importeur



Verenigd Koninkrijk Markering
voor conformiteitsbepaling

SpeedX-producten worden mogelijk beschermd door één of meer plaatselijke of buitenlandse octrooien. Raadpleeg www.plexpcr.com/patents voor uitgebreide octrooi-informatie.

PlexPCR[®], **ResistancePlus**[®], **PlexPrime**[®] en **PlexZyme**[®] zijn handelsmerken van SpeedX. Overige auteursrechten en handelsmerken zijn het eigendom van de respectieve rechthebbende.

© Copyright 2026 SpeedX Pty. Ltd.