



PlexPCR[®] VHS

Multiplex PCR-analys i realtid för detektion av Herpes simplex-virus 1, Herpes simplex-virus 2, Varicella zoster-virus och *Treponema pallidum*



IVDR Certified

Produkt	Plattform	Storlek (reaktioner)	Katalognr.
<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

Tillbehör – analysprogramvara

<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
Svit 123
2595 AM Haag
Nederländerna



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

ENDAST FÖR PROFESSIONELLT BRUK*

Får inte säljas i USA

Innehållsförteckning

1	Produktbeskrivning	4
2	Avsedd användning	4
3	Patogeninformation	4
4	Satsen innehåller	5
5	Leverans och förvaring.....	6
6	Varningar och försiktighetsåtgärder	6
6.1	Allmänt	6
6.2	Laboratorium	6
6.3	Provhantering.....	6
6.4	Analys	6
6.5	Säkerhetsåtgärder.....	6
6.6	Varningar och försiktighetsåtgärder för analys-plugin	6
7	Associerade produkter och förbrukningsartiklar	7
8	Teknikprincip.....	9
9	Översikt av förfarande	10
10	Detaljerad procedur	11
10.1	Insamling, transport och förvaring av prover	11
10.1.1	Godkända provinsamlingsenheter	11
10.1.2	Insamling, transport och förvaring för prov taget med provpinne (torrsvabb) i virustransportmedia	11
10.1.3	Insamling, transport och förvaring av standard FLOQSwab™ steril i torrt rör (Copan, kat.nr 552C).....	11
10.1.4	Insamling transport och förvaring av torr provtagningspinne suspenderad i 1 mL UTM-medium (Copan, kat.nr 350C) 11	
10.2	Provbehandling	11
10.3	Internal Control (IC) (Intern kontroll (IC))	12
10.3.1	Internal Control (Intern kontroll) på QIASymphony SP	12
10.3.2	Intern kontroll på QIAcube HT	13
10.3.3	Internal Control (Intern kontroll) på MagNA Pure 96	13
10.4	Förberedelse av realtids-PCR	13
10.4.1	Masterblandningens förberedelse.....	14
11	Programmering och analys	14
12	Tolkning av resultat	14
13	Begränsningar	15
14	Kvalitetskontroll.....	15
15	Positive Control HSV/VZV/TP Instruktioner.....	15
15.1	Bruksanvisning.....	15
16	Prestandaegenskaper	16
16.1	Klinisk prestanda	16
16.1.1	Klinisk studie 1	16
16.1.2	Klinisk studie 2	16
16.2	Analytisk prestanda.....	17
16.2.1	Reproducerbarhet och repeterbarhet.....	17
16.2.2	Analytisk sensitivitet	19
16.2.3	Analytisk specificitet	19

16.2.4	Konkurrensstörning	20
16.2.5	Potentiellt interfererande substanser.....	21
17	Kundsupport och teknisk support	22
18	Referenser	22
19	Bilaga 1: LightCycler® 480 Instrument II	23
19.1	Programmera LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II)	23
19.2	Färgkompensation för LightCycler® 480 Instrument II	30
19.3	Tolkning av resultat	31
20	Bilaga 2: Applied Biosystems® 7500 Fast.....	32
20.1	Programmering av Applied Biosystems® 7500 Fast.....	32
20.2	Tolkning av resultat	35
21	Bilaga 3: Bio-Rad CFX96 Dx™ och CFX96 Touch™ PCR-system i realtid.....	36
21.1	Programmera CFX96 Dx och CFX96 Touch Real-time PCR System.....	36
21.2	Tolkning av resultat	38
22	Bilaga A: Tolkning av resultat med hjälp av PlexPCR® VHS-analysprogramvara	39
22.1	FastFinder-plattformen – Minimikrav på IT-utrustning	39
22.2	Analysplugin (ny användare)	40
22.3	Exempel på namngivning	40
22.4	Analys	41
22.5	Resultat.....	43
22.5.1	Fliken Summary (Sammanfattning).....	43
22.5.2	Fliken Detaljer	45
22.6	Referens.kurva.....	46
22.7	Exportera resultat	46
22.8	Hämta auktoriserade analyser.....	46
22.9	Kontroll exempel grafer	46
22.9.1	Negativ kontroll (Na).....	46
22.9.2	Ingen mallkontroll (obs)	47
22.9.3	Positiv kontroll (alla mål) (Pa)	48
22.10	Exempel	48
22.10.1	Exempel 1. Positivt prov – ett enda mål har identifierats	49
22.10.2	Exempel 2. Positivt prov – flera mål har identifierats.....	50
22.10.3	Exempel 3. Negativt prov.....	51
22.10.4	Exempel 4. Ogiltigt prov.....	52
23	Ordlista	53

1 Produktbeskrivning

PlexPCR[®] VHS-kittet är en kvalitativ PCR-realtidsanalys (qPCR) för detektering av Herpes simplex-virus 1 (HSV-1), Herpes simplex-virus 2 (HSV-2), Varicella zostervirus (VZV) och *Treponema pallidum*. Analysen valideras på prover som extraherats med MagNA Pure 96 System (Roche), QIASymphony[®] SP (QIAGEN) och QIAcube HT (QIAGEN) och realtidsdetektering på Applied Biosystems[®] 7500 Fast (7500 Fast), Roche LightCycler[®] 480 Instrument II (LC480 II) och Bio-Rad CFX96 Dx[™] (CFX96 Dx) och CFX96 Touch[™] (CFX96 Touch) realtidsbaserade PCR-detekteringssystem.

2 Avsedd användning

PlexPCR[®] VHS-kittet är ett *in vitro*-diagnostiskt PCR-realtidstest för kvalitativ detektion och differentiering av HSV-1, HSV-2, VZV och *T. pallidum*.

PlexPCR[®] VHS-kittet är avsett att underlätta diagnosen av HSV-1, HSV-2, VZV och *T. pallidum* från genitala, icke-genitala, anala/rektala och orala svabpprover.

Negativa resultat utesluter inte HSV-1-, HSV-2-, VZV- och *T. pallidum*-infektioner och bör inte användas som den enda grunden för diagnos, behandling eller andra beslut om patienthantering.

Kittet **PlexPCR**[®] VHS är avsett för användning i professionella miljöer som t.ex. sjukhus eller referens- eller statslaboratorier. Det är inte avsett för självtestning, hemmabruk eller patientnära analyser.

WARNING: PlexPCR[®] VHS-kittet är inte avsett för användning med cerebrospinalvätska eller för användning vid prenatal screening.

3 Patogeninformation

Herpes simplex-virus av serotyp 1 och 2 (HSV-1 och HSV-2) och varicella zoster-virus (VZV) är dubbelsträngade DNA-virus som tillhör Herpesviridae-familjen¹. Infektioner av HSV-1 och HSV-2 hos människor kan orsaka lesioner på en rad platser inklusive munnen, ansiktet, könsorganet, ögonen, huden och det centrala nervsystemet. Lesioner kan bero på primär infektion eller återaktivering av latent infektion. HSV-1 orsakar främst infektioner i munnen och ansiktet medan HSV-2 ofta associeras med sexuellt överförda infektioner². Primär infektion med VZV orsakar vattkoppor, och återaktivering i nervsystemet senare i livet ger Herpes zoster³. Kutana prover inkluderar hud och penis, och hud- och slemhinneprover inkluderar ögon, orala och vaginala platser. I sällsynta fall associeras även herpesvirus med viral encefalit och meningit, liksom infektioner hos nyfödda orsakade av perinatal överföring.

*Treponema pallidum*s underart *pallidum* (*T. pallidum*) är en spiroketer som orsakar syfilis, vilket är en sexuellt överförd sjukdom som kan infektera en mängd olika vävnader och organ. Det typiska kännetecknet för primär syfilis är uppkomsten av en hudskada som kallas för en schanker och finns på infektionsstället⁴. Detta inträffar vanligtvis i könsregionerna, men kan också förekomma på extragenitala inokuleringsplatser, inklusive ställen på munnen och ansiktet. Sekundär syfilis kännetecknas av diffust utslag på bålen och extremiteterna, och kan också manifesteras sig som slemhinneskador vid munnen och könsorganet⁵. Tertiär syfilis kan leda till allvarigare manifestationer inklusive hepatit, artrit, neurosyfilis, kardiovaskulära syfilis och granulomatös syfilis, om den inte behandlas⁴.

4 Satsen innehåller

Antal teser Tillräckligt för 100 reaktioner (20 µL reaktioner)

Tabell 1. Kittets innehåll <i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₁₀₎ (kat.nr 1121001)			
Lockets färg	Innehållsförteckning	Beskrivning	Mängd
Blå	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Masterblandning som innehåller komponenter som behövs för realtids-qPCR, inklusive dNTP:er, DNA-polymeras och buffertlösning	1 x 1 mL
Grön	VHS Mix, 20x	Blandning innehållande oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av HSV-1, HSV-2, VZV och <i>T. pallidum</i>	1 x 100 µL
Vit	Control Mix 1 (Kontrollblandning 1), 20x	Blandning som innehåller oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av intern kontrollanalys för LC480 II	1 x 100 µL
Röd	Internal Control Cells (Interna kontrollceller) [#]	Interna kontrollceller som innehåller intern DNA-mallkontroll för att kontrollera extraktions- och amplifieringseffektivitet	1 x 500 µL
Neutral	Nuclease Free Water (Nukleasfritt vatten)	Vatten av PCR-kvalitet	1 x 1 mL

[#] Förvara mallrören separat från oligoblandningar, dvs. i ett rum för hantering av mallar eller nukleinsyra

[^]Oligonukleotider är PCR-primerpar, *PlexZyme*[®]-enzymer och fluorescerande sond

Tabell 2. Kittets innehåll <i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₅₅₀₎ (kat.nr 1123001)			
Lockets färg	Innehållsförteckning	Beskrivning	Mängd
Blå	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Masterblandning som innehåller komponenter som behövs för realtids-qPCR, inklusive dNTP:er, DNA-polymeras och buffertlösning	1 x 1 mL
Grön	VHS Mix, 20x	Blandning innehållande oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av HSV-1, HSV-2, VZV och <i>T. pallidum</i>	1 x 100 µL
Vit	Control Mix 2 (Kontrollblandning 2), 20x	Blandning som innehåller oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av intern kontrollanalys för 7500 Fast	1 x 100 µL
Röd	Internal Control Cells (Interna kontrollceller) [#]	Interna kontrollceller som innehåller intern DNA-mallkontroll för att kontrollera extraktions- och amplifieringseffektivitet	1 x 500 µL
Neutral	Nuclease Free Water (Nukleasfritt vatten)	Vatten av PCR-kvalitet	1 x 1 mL

[#] Förvara mallrören separat från oligoblandningar, dvs. i ett rum för hantering av mallar eller nukleinsyra

[^]Oligonukleotider är PCR-primerpar, *PlexZyme*[®]-enzymer och fluorescerande sond

Tabell 3. Kittets innehåll <i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₇₅₎ (kat.nr 1125001)			
Lockets färg	Innehållsförteckning	Beskrivning	Mängd
Blå	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Masterblandning som innehåller komponenter som behövs för realtids-qPCR, inklusive dNTP:er, DNA-polymeras och buffertlösning	1 x 1 mL
Grön	VHS Mix, 20x	Blandning innehållande oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av HSV-1, HSV-2, VZV och <i>T. pallidum</i>	1 x 100 µL
Vit	Control Mix 3 (Kontrollblandning 3), 20x	Blandning som innehåller oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av intern kontrollanalys för CFX96 Dx och CFX96 Touch	1 x 100 µL
Röd	Internal Control Cells (Interna kontrollceller) [#]	Interna kontrollceller som innehåller intern DNA-mallkontroll för att kontrollera extraktions- och amplifieringseffektivitet	1 x 500 µL
Neutral	Nuclease Free Water (Nukleasfritt vatten)	Vatten av PCR-kvalitet	1 x 1 mL

[#] Förvara mallrören separat från oligoblandningar, dvs. i ett rum för hantering av mallar eller nukleinsyra

[^]Oligonukleotider är PCR-primerpar, *PlexZyme*[®]-enzymer och fluorescerande sond

5 Leverans och förvaring

- Komponenterna i **PlexPCR**[®] VHS-kitten levereras på torris eller kylpåsar. Samtliga komponenter ska förvaras vid -25 °C till -15 °C efter mottagandet. Frys- och tinningscykler rekommenderas att begränsas till 15.
- När de förvaras under de rekommenderade förhållandena och hanteras korrekt bevaras kittets aktivitet till och med utgångsdatumet som finns på etiketten. Får inte användas efter utgångsdatumet.

6 Varningar och försiktighetsåtgärder

6.1 Allmänt

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Läs denna bruksanvisning noggrant före användning. Följ procedurerna så som de beskrivs för att säkerställa testresultatets tillförlitlighet. Avvikelser från dessa procedurer kan påverka testprestandan.
- Användare bör vara tillräckligt utbildade i användningen av **PlexPCR**[®] VHS-analysen.
- Allvarliga incidenter ska rapporteras till tillverkaren och behörig myndighet i användarens och/eller patientens medlemsstat.

6.2 Laboratorium

- Det rekommenderas att utföra provförberedning/-extraktion, beredning av masterblandning, provtillsats och termocykling i avskilda utrymmen i rummet. PCR-instrumentet bör som ett minimum placeras i ett separat rum till områdena där reaktionerna genomförs.
- Det rekommenderas att rutinmässiga laboratorieförsiktighetsåtgärder följs. Bär lämplig personlig skyddsutrustning t.ex. handskar, skyddsglasögon och laboratorierock vid hanteringen av reagenser.
- Patogena organismer kan förekomma i kliniska prover. Behandla alla biologiska prover som potentiellt infektiösa och följ institutionens säkerhetsprocedurer för hantering av kemikalier och biologiska prover.
- Följ institutionens procedurer för bortskaffande av farligt avfall för korrekt bortskaffande av prover, reagenser och andra potentiell kontaminerade material.

6.3 Provhandling

- Prover bör samlas in, transporteras och förvaras enligt standardlaborrietekniker eller enligt insamlingskittets instruktioner.

6.4 Analys

- Grundläggande försiktighetsåtgärder för att förhindra kontaminering av PCR-reaktioner omfattar användningen av sterila filterpipettspetsar, användningen av en ny pipettspets vid varje pipetteringsåtgärd och separering av arbetsflöde.
- PCR-tester är benägna att kontamineras från tidigare PCR-produkter. Öppna aldrig reaktionskärlen efter avslutad PCR.
- Analysreagenserna innehåller IDTE-buffert som kan orsaka allvarlig ögonirritation. Användning av ett väl ventilerat område och lämplig personlig skyddsutrustning såsom handskar, skyddsglasögon samt laboratorierock rekommenderas vid hantering av reagens.

6.5 Säkerhetsåtgärder

- Säkerhetsdatablad finns tillgängliga på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

6.6 Varningar och försiktighetsåtgärder för analys-plugin

- SpeedX-programvara kan endast styra rådataanalysen som testkittet genererar när det används med dess respektive PCR-instrument. Den styr inte provförberedelser, reaktioner, utrustningsprogrammering eller tillhandahållande av behandling.
- Användare ska få adekvat utbildning i **PlexPCR**[®] VHS-analysprogramvara och åtkomst ska begränsas till varje enskild tilldelad användare.
- Det rekommenderas att användarautentisering och cybersäkerhetskontroller såsom ett antivirusprogram och en brandvägg installeras på IT-system och infrastruktur där programmet används.
- Om du upptäcker en cybersäkerhetsincident såsom obehörig åtkomst eller angrepp med ett utpressningsvirus, kontakta tech@speedx.com.au för ytterligare support.

7 Associerade produkter och förbrukningsartiklar

Positivt kontrollmaterial

- Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat. nr 95007). Se **avsnittet 15.1** för bruksanvisning.

Provinsamlingsenheter

- Standard FLOQSwab™ steril i torrt rör (Copan, kat.nr 552C)
- Torr provtagningspinne suspenderad i 1 mL UTM-medium (Copan, kat.nr 350C)

Allmänna laboratorieartiklar

- Handskar och rena laboratorierockar
- Vortexblandare
- Bänkcentrifug för 0,5 mL och 1,5 mL rör
- Mikropipetter
- Sterila aerosolresistenta pipettspetsar
- 0,5 mL behållare och 1,5 mL behållare (PCR-kvalitet)
- 2,0 mL behållare (för förspädning av interna kontrollceller)
- Universal Transport Media (UTM) för beredning av positiv kontroll HSV/VZV/TP. Se **avsnittet 15.1** för mer information

För MagNA Pure 96 Instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS) (Fosfatbuffrad koksallösning (PBS))
- MagNA Pure 96 Internal Control Tube (Roche, kat.nr 06374905001)
- MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit (Roche, kat.nr 06543588001)
- MagNA Pure 96 System Fluid (externt) (Roche, kat.nr 06640729001)
- MagNA Pure 96 Processing Cartridge (Roche, kat.nr 06241603001)
- MagNA Pure 96 Pure tip 1000 µL (Roche, kat.nr 6241620001)
- MagNA Pure 96 Output Plate (Roche, kat.nr 06241611001)
- MagNA Pure Sealing Foil (Roche, kat.nr 06241638001)

För QIA Symphony® SP-instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS) (Fosfatbuffrad koksallösning (PBS))
- Sample Prep Cartridges, 8-well (Qiagen, kat.nr 997002)
- 8-Rod Covers (Qiagen, kat.nr 997004)
- Filterspetsar, 200 µL och 1 500 µL (Qiagen, kat.nr 990332 och 997024)
- 2 mL behållare (används för framställning av intern kontrollblandning) (Sarstedt, kat.nr 72.639 eller 72.694)
- 14 mL polystyrenbehållare (används för beredning av intern kontrollblandning) (Corning, kat.nr 352051)

För QIAcube HT-instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS) (Fosfatbuffrad koksallösning (PBS))
- QIAamp 96 Virus QIAcube HT-kit (Qiagen, kat.nr 57731)
- Pipetter och engångspipettspetsar med aerosolbarriärer (20–1000 µL)
- Isopropanol
- Etanol (96–100 %)
- QIAcube HT-reagenstråg
- Buffert ATL (Qiagen, kat.nr 19076)
- QIAGEN Proteinase K (Qiagen, kat.nr 19131 eller 19133)

För Applied Biosystems® 7500 Fast

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

För LightCycler® 480 Instrument II

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

För Bio-Rad CFX96™ Dx och CFX96 Touch™ Real-time PCR Detection System

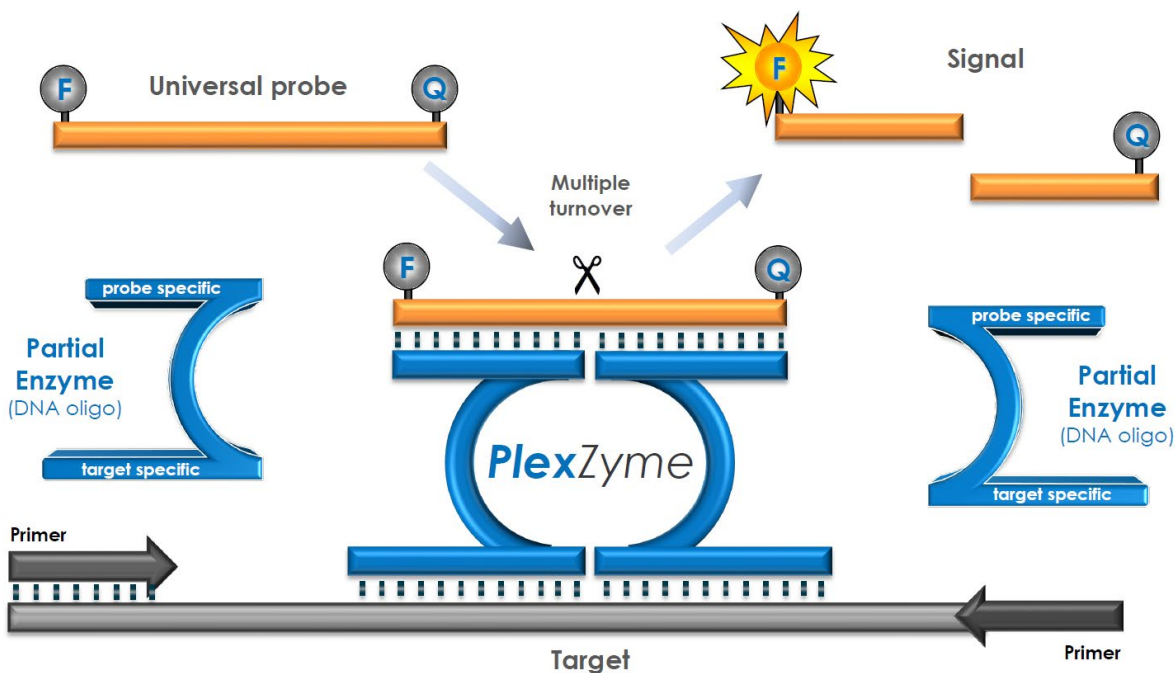
- Multiplate® 96-well PCR plates (Bio-Rad, kat.nr MLP9601)
- Microseal® PCR Plate sealing Film (Bio-Rad, kat.nr MSB1001)

8 Teknikprincip

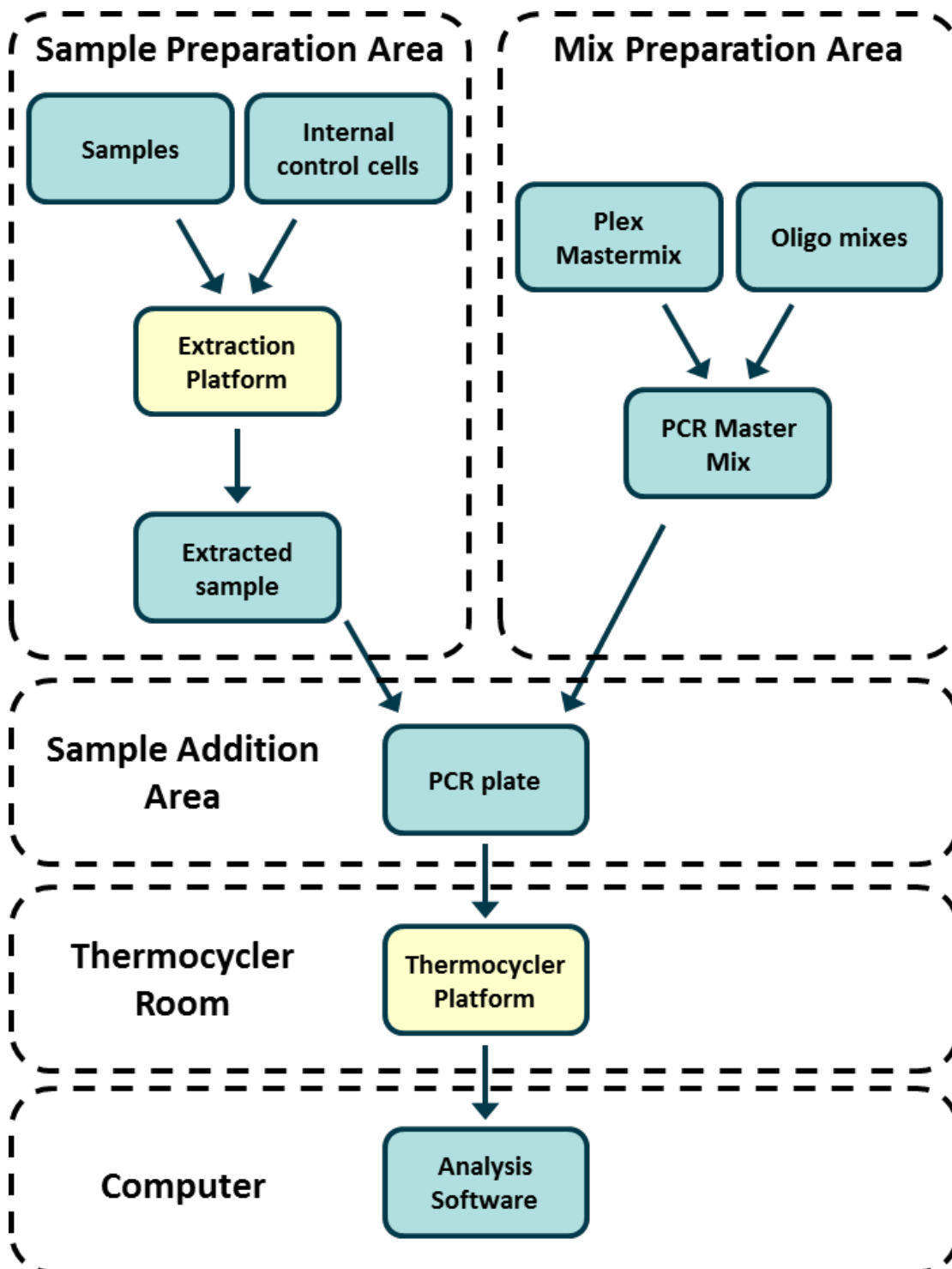
Realtids-PCR (qPCR) kan användas för att amplifiera och detektera specifika målnukleinsyror från patogener. **PlexPCR**[®] är en qPCR-teknik som använder **PlexZyme**[®]-enzym som detekterar och rapporterar den amplifierade produkten genom generering av en fluorescenssignal (**Figur 1**).

PlexZyme[®]-enzym är katalytiska DNA-komplex som består av två DNA-oligonukleotider som benämns som "partiella enzymer". Varje partiellt enzym har en målspecifik region, en katalytisk kärna och en universell probbindande region. När målprodukten föreligger binder de två partiella enzymerna intill varandra för att bilda aktivt **PlexZyme**[®] som har katalytisk aktivitet för att klyva en märkt prob. Klyvning separerar fluorofor- och quencher-färgämnen vilket ger upphov till en fluorescenssignal som kan övervakas i realtid. **PlexZyme**[®]-enzym har ytterligare specificitet jämfört med tekniker med alternerande detektion eftersom två partiella enzymer krävs för att binda för detektion. **PlexZyme**[®]-enzym är även multipla omsättningsenzymer och multipla prober kan klyvas under varje PCR-cykel vilket resulterar i en stark och känslig signal. **PlexZyme**[®]-analyser är mycket känsliga och specifika och är idealiskt lämpliga för multiplexdetektion av patogener.

Figur 1. Schematisk presentation av PlexZyme[®]-detektion och universell signalering



9 Översikt av förfarande



10 Detaljerad procedur

Obs! Medföljande reagensers namn står skrivna med kursiv text och färgen på behållarens lock står angiven inom parentes.

10.1 Insamling, transport och förvaring av prover

Genitala, extragenitala, icke-genitala, anala/rektala och orala lesionsprover från män och kvinnor ska samlas in, transporteras och förvaras enligt god laboratoriesed eller enligt anvisningar för provtagningssetsen.

10.1.1 Godkända provinsamlingsenheter

Otillräcklig eller felaktig provinsamling, förvaring och transport kan ge falska testresultat. Korrekt utbildning inom provinsamling rekommenderas för att säkerställa provvärnets kvalitet och stabilitet.

Provinsamlingsenheter som har godkänts med **PlexPCR**[®] VHS-kitten inkluderas nedan med en kort vägledning med instruktioner från enhetens tillverkare gällande insamling, hantering och transport. Dessa instruktioner är inte avsedda att ersätta eller åsidosätta instruktioner som tillhandahållits av tillverkaren. Se alltid instruktionerna från provinsamlingsenhetens tillverkare för korrekta insamlingsmetoder.

Utbildad personal måste säkerställa korrekt förståelse för enheten och metoden innan provinsamlingsmetoden utförs. Granska åtminstone testbeskrivningen för följande: indikation för provtyp, tillräcklig mängd, förfarande(n), nödvändiga insamlingsmaterial, patientförberedelse och anvisningar för korrekt hantering och lagring.

10.1.2 Insamling, transport och förvaring för prov taget med provpinne (torrsvabb) i virustransportmedia

Torra provtagningspinnar används för insamling av olika patientprover. På grund av mångfaldigheten hänvisas till tillverkarens bipacksedel för korrekt provtyp och insamlingsmetod.

10.1.3 Insamling, transport och förvaring av standard FLOQSwab[™] steril i torrt rör (Copan, kat.nr 552C)

1. Öppna påsen från den sida som anges av pilen och avlägsna provtagningspinnen samtidigt som du säkerställer att ingenting kommer i kontakt med dess spets.
2. Samla in provet. Under provtagning får spetsen enbart komma i kontakt med det område där provet tas för att minska risken för kontaminering.
3. Behandla provtagningspinnen enligt intern laboratorieprocedur.
4. Rekommenderad förvaring är vid 4 °C i högst 24 timmar. Vid långtidsförvaring, förvara vid eller under -80 °C.

10.1.4 Insamling transport och förvaring av torr provtagningspinne suspenderad i 1 mL UTM-medium (Copan, kat.nr 350C)

1. Öppna UTM-kittets förpackning och avlägsna provröret med medium och den interna påsen som innehåller den sterila provtagningspinnen.
2. Ta ut den sterila provtagningspinnen från påsen och samla in provet. Säkerställ att spetsen inte kommer i kontakt med något förutom insamlingsområdet för att förhindra risken för kontaminering.
3. När provet samlats in, skruva loss och avlägsna locket från provröret och var försiktig så att du inte spiller ut mediet.
4. För in provtagningspinnen i provröret tills brytpunkten är i nivå med provrörets öppning.
5. Böj och bryt av provtagningspinnen vid brytpunkten samtidigt som du riktar provröret bort från ansiktet. Kasta den överblivna delen.
6. Skruva på locket på provröret och försegla det hermetiskt.
7. Bearbeta provet i UTM inom 48 timmar efter provtagningen och förvara provröret vid 4 °C i högst 24 timmar. Vid långtidsförvaring, förvara vid eller under -80 °C.
8. Centrifugera provet i 20 sekunder innan bearbetningen för att frigöra provet från provtagningspinnen och homogenisera mediet.

10.2 Provbehandling

PlexPCR[®] VHS satsen har validerats på de listade extraktionsinstrumenten **Tabell 4**.

Se **avsnitt 10.3** för bruksanvisning för Internal Control (Intern kontroll).

Tabell 4. Validerade extraktionsprotokoll				
Instrument	Extraktionskit	Provvolyum	Protokoll	Elueringsvolyum
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 Se 10.3.1 för anvisningar om hur man använder intern kontroll med QIASymphony SP

^b Se 10.3.2 för anvisningar om hur man använder intern kontroll med QIAcube HT

^c Se 10.3.3 för användning av den interna kontrollen med MagNA Pure 96. Det flytande mediet från den eluerade Positive Control HSV/VZV/TP-svabben har verifierats för nukleinsyraextraktion med denna metod. Se avsnittet 15.1 för mer information.

10.3 Internal Control (IC) (Intern kontroll (IC))

Kittet omfattar en intern kontroll för att kontrollera extraktionseffektivitet och PCR-inhibering i realtid. Den interna kontrollanalysen tillhandahålls som en *Control Mix (Kontrollblandning) (VIT)* och *Internal Control Cells (Interna kontrollceller) (RÖD)*. *Kontrollblandningen* tillsätts i PCR-masterblandningen (Tabell 10). *Internal Control Cells (Interna kontrollceller)* innehåller den interna kontrollens DNA-mall. *Internal Control Cells (Interna kontrollceller)* spås och behandlas enligt nedan för specifika extraktionsinstrument. Den interna kontrollens DNA-mall är därför samextraherad med provet och samamplifierad i reaktionen.

10.3.1 Internal Control (Intern kontroll) på QIASymphony SP

Du finner mer detaljerad information i "Bruksanvisning för QIASymphony DSP Virus/Pathogen (handbok)". AVE-blandningen med RNA-buffert för intern kontrollbärare ska förberedas omedelbart innan körningen startas. Extraktion ska utföras enligt tillverkarens anvisningar.

Späd ut *Internal Control Cells (Interna kontrollceller) (RÖD)* 1:50 i 1x PBS (Tabell 5). Justera volymen efter behov med hjälp av samma spädningfaktor för det antal prov som behövs.

Obs! Lagra INTE utspädda Internal Control Cells (Interna kontrollceller)

Tabell 5. Spädning av Internal Control Cells (Interna kontrollceller) för QIASymphony SP (spädning 1:50)		
<i>Internal Control Cells (Interna kontrollceller) (RÖD)</i> (µL)	1x PBS (µL)	Totalvolyum (µL)
40	1960	2000

Utspädda *Internal Control Cells (Interna kontrollceller)* används sedan för att förbereda en AVE-blandning med RNA-buffert för intern kontrollbärare, så som visas i Tabell 6 nedan. Justera volymen efter behov med hjälp av samma spädningfaktor för antalet prov som behövs (se extraktionskittets handbok för minimivolyum för antal prov som behövs).

Behållarna som innehåller AVE-blandningen med RNA-buffert för intern kontrollbärare placeras sedan i en behållarbärare och laddas på plats A i provlådan i QIASymphony SP. 120 µL (standard) av blandningen tillsätts i varje prov.

Tabell 6. Förberedelse av AVE-blandning med RNA-buffert för intern kontrollbärare för QIASymphony					
Typ av behållare	Antal prover	Volym utspädda IC-celler (µL)	Lagerbärar-RNA (µL)	Buffert-AVE (µL)	Totalvolyum (µL)
-	1	10	3	107	120
2 mL	1 + tomvolyum [^]	40	12	428	480
14 mL	1 + tomvolyum [#]	60	18	642	720

[^]2 mL behållare kräver 3 ytterligare prover (360 µL) för att kompensera för tomvolyumen.

[#]14 mL behållare kräver 5 ytterligare prover (600 µL) för att kompensera för tomvolyumen.

10.3.2 Intern kontroll på QIAcube HT

Späd ut *Interna kontrollceller (RÖD)* 1:10 i 1x PBS (se **Tabell 7** som ett exempel). Justera volymen efter behov med hjälp av samma spädningsfaktor för det antal prov som behövs.

Obs! Lagra INTE utspädda *Internal Control Cells (Interna kontrollceller)*

Tabell 7. Spädning av interna kontrollceller QIAcube HT (spädning 1:10)		
<i>Internal Control Cells (Interna kontrollceller) (RÖD)</i> (µL)	1x PBS (µL)	Totalvolym (µL)
30	270	300

De utspädda *interna kontrollcellerna* används sedan för att framställa buffert ACL, bärar-RNA och intern kontrollcellsblandning. De volymer som krävs per prov visas i "Handboken för QIAcube HT". Hänvisa till **Tabell 8** som ett exempel.

QIAcube HT-programvaran beräknar reagensvolymerna och antalet spetsar som krävs för att slutföra protokollet. Dessa värden visas med arbetsbordslayouten i QIAcube HT-arbetsytan. Du finner detaljerad information i "Handboken för QIAcube HT". ACL-blandningen bör beredas och tillsättas till lämpligt tråg omedelbart innan körningen påbörjas. Extraktion ska utföras enligt tillverkarens anvisningar.

Tabell 8. Beredning av buffert ACL, bärar-RNA och intern kontroll			
Antal prover	Volym utspädda IC-celler (µL)	Lagerbärar-RNA (µL)	Buffert ACL (mL)
24	280	140	4,5

Öppna lämplig QIAcube HT-körfil som motsvarar QIAamp 96 Virus QIAcube HT.QSP-protokollet, och klicka på knappen Run (Kör) för att starta körningen.

10.3.3 Internal Control (Intern kontroll) på MagNA Pure 96

Späd ut *Internal Control Cells (Interna kontrollceller) (RÖD)* 1:200 i 1x PBS (**Tabell 9**). Justera volymen efter behov med hjälp av samma spädningsfaktor (se extraktionskittets handbok för minimivolym för antal prov som behövs). De utspädda interna kontrollcellerna laddas på Internal Control Tube (Interna kontrollröret) på MagNA Pure 96 och 20 µL tillsätts automatiskt i varje prov (standard).

Obs! Lagra INTE utspädda *Internal Control Cells (Interna kontrollceller)*

Tabell 9. Spädning av Internal Control cells (Interna kontrollceller) MagNA Pure 96 (spädning 1:200)			
<i>Internal Control Cells (Interna kontrollceller) (RÖD)</i> (µL)	1x PBS (µL)	Totalvolym (µL)	Volym tillsatt i prov (µL)
18	3582	3600	20

10.4 Förberedelse av realtids-PCR

Obs! Före användning av reagenser, tina helt och blanda noga genom att vortexa snabbt.

Se **Tabell 1 – Tabell 3** för beskrivning av kittets innehåll.

10.4.1 Masterblandningens förberedelse

För en 20 µL reaktionsvolym krävs 15 µL masterblandning och 5 µL extrakt. Bered masterblandningen enligt beskrivningen i **Tabell 10**.

- Pipettera masterblandningen på PCR-plattan och tillsätt sedan extraherat prov till reaktionen.
- Positiva och negativa kontroller bör köras på varje platta.
- Försegla och centrifugera sedan plattan och överför till termocyklern.

Tabell 10. Masterblandning		
Reagens	Koncentration	Volym per 20 µL reaktion (µL)
Nuclease Free Water (Nukleasfritt vatten) (neutralt)	EJ TILLÄMPLIGT	3,0
Plex Mastermix (BLÅ)	2x	10,0
VHS mix, 20x blandning (GRÖN)	20x	1,0
Control Mix (Kontrollblandning)* (VIT)	20x	1,0
Totalvolym (µL)		15,0
Tillsätt 5 µL för en slutlig volym på 20 µL		

* Färgblandningar är specifika för qPCR-instrument. Se **avsnitt 4** för den medföljande färgblandningen [avsnittet10_3_3](#)

11 Programmering och analys

Detaljer för programmering och analys beskrivs i **avsnitt 19 – avsnitt 21**.

PlexPCR[®] VHS-kittet använder fem kanaler för att detektera HSV-1, HSV-2, VZV och *T. pallidum* och intern kontroll (**Tabell 11**).

Tabell 11. Kanaler för PlexPCR [®] VHS-mål					
qPCR-instrument	HSV-2	HSV-1	VZV	Internal Control (Intern kontroll)	<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 och CFX96 Touch	FAM	HEX	Texas Red	Quasar 705	Cy5

12 Tolkning av resultat

Datatolkning kräver analysprogramvaran **PlexPCR**[®] VHS. Analysprogramvaran **PlexPCR**[®] VHS automatiserar datatolkningen av amplifieringsresultat och effektiviserar arbetsflödet. Instruktioner för hur man använder analysprogramvaran finns i **avsnitt 22**.

Se **Tabell 12** för lämplig analysprogramvara för varje realtids-PCR-instrument. Analysprogramvaran kan erhållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Tabell 12. Analysprogramvara		
Kat.nr	Analysprogramvara	qPCR-instrument
99005	PlexPCR [®] VHS (LC480)	LC480 II
99004	PlexPCR [®] VHS (7500)	7500 Fast
99006	PlexPCR [®] VHS (CFX)	CFX96 Dx och CFX96 Touch

Besök webbplatsen <https://www.plexpcr.com/plexpcr-vhs/resources> för att säkerställa att du använder den senaste versionen av analysprogramvaran.

13 Begränsningar

- **PlexPCR**[®] VHS-analysen bör endast utföras av personal som utbildats i proceduren och enligt denna bruksanvisning.
- Tillförlitliga resultat är beroende av korrekt insamling, transport, förvaring och behandling av prover. Underlåtenhet att följa lämpliga procedurer för något av dessa steg kan leda till felaktiga resultat.
- **PlexPCR**[®] VHS-analysen är en kvalitativ analys och ger inga kvantitativa värden eller information om organismmängd.
- Resultat från testet måste korreleras med klinisk historik, epidemiologiska data, laboratoriedata och andra data som är tillgängliga för klinikern.
- Negativa resultat utesluter inte risken för infektion på grund av felaktig provinsamling, tekniska fel, förekomst av inhibitorer, provblandning eller liten mängd organismer i det kliniska provet.
- Falskt positiva resultat kan förekomma på grund av korskontamination av målorganismer, deras nukleinsyror eller amplifierad produkt.
- **PlexPCR**[®] VHS-kittet är inte avsett för användning med cerebrospinalvätska eller för användning vid prenatal screening.

14 Kvalitetskontroll

PlexPCR[®] VHS-kittet inkluderar en intern kontroll för att övervaka extraktionseffektivitet och realtids-PCR-hämning (**avsnitt 10.3**).

Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat. nr 95007) rekommenderas som extern positiv kontroll. Externa positiva kontroller används för rutinmässiga kvalitetskontroller för att hjälpa användaren att upptäcka oväntade förhållanden som kan leda till testfel. Detaljerade instruktioner finns i **avsnittet 15.1** för Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat. nr 95007). Ett känt negativt prov rekommenderas att användas som en negativ kontroll.

15 Positive Control HSV/VZV/TP Instruktioner

Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat. nr 95007) är den rekommenderade externa positiva kontrollen som har validerats för användning som extern positiv kontroll med **PlexPCR**[®] VHS-kit. Externa positiva kontroller används för rutinmässiga kvalitetskontroller för att hjälpa användaren att upptäcka oväntade förhållanden som kan leda till testfel.

Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat. nr 95007) ska förvaras vid 2 °C till 30 °C fram till användning. När Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat. nr 95007) har öppnats ska det inte återanvändas.

Se bipacksedeln för Positive Control HSV/VZV/TP för ytterligare information om lagring och begränsningar.

15.1 Bruksanvisning

Förbered SpeedX Positive Control HSV/VZV/TP i Universal Transport Medium (UTM) genom att sänka pinnens spets i 3 mL UTM, knäpp sedan pinnen vid brytpunkten innan du fäster skruvlocket och inkuberar i rumstemperatur i en minut. Vortexblanda injektionsflaskan med spetsen nedsänkt i 45 sekunder (ta inte bort spetsen).

Det flytande mediet från den eluerade Positive Control HSV/VZV/TP-pinnen har verifierats för nukleinsyraextraktion med MagNA Pure 96. Bearbeta det flytande mediet från den eluerade pinnen Positive Control HSV/VZV/TP för nukleinsyraextraktionssteget med MagNA Pure 96 enligt beskrivningen i **Avsnitt 10.2** och **Avsnitt 10.3.3**.

Bered qPCR-reaktioner enligt beskrivning i **Avsnitt 10.4** med användning av positiv kontroll som prov.

När den positiva kontrollen har förberetts i 3 mL UTM kan den alikvoterats i volymer för engångsbruk (rekommenderad alikvoterad volym på 210 µL) och den är stabil mellan -25 °C till -15 °C i 30 dagar.

När foliepåsen har öppnats ska Positive Control HSV/VZV/TP-svabben användas omedelbart.

16 Prestandaegenskaper

16.1 Klinisk prestanda

16.1.1 Klinisk studie 1

En retrospektiv klinisk studie genomfördes vid Public Health Laboratory (PHL), Bristol, England. Prover samlades in från januari till mars 2017 och baserat på kliniska laboratorieresultat valdes 222 positiva och 205 negativa svabbprover för att inkluderas i studien. De 222 proverna bestod av 161 genitala svabbar, 14 anala/rektala svabbar, 46 icke-genitala svabbar och 1 svabb (ingen plats specificerad). Prover extraherades med användning av QIAsymphony SP (Qiagen) extraktionsplattform med användning av DSP Virus/Pathogen Minikit (Qiagen) och det cellfria 200-protokollet. 200 µL prov extraherades och den slutliga elueringsvolymen var 85 µL. Prover testades i 20 µL-reaktioner på 7500 Fast-instrumentet med hjälp av **PlexPCR**[®] VHS₍₅₅₀₎-kittet.

Prestandan hos **PlexPCR**[®] VHS-kittet jämfördes med kliniska laboratorieresultat från intern realtid PCR vid PHL Bristol, med det interna resultatet som det verkliga resultatet. Känslighet och specificitet för **PlexPCR**[®] VHS-kittet visas i **Tabell 13**. Analys av resultaten i enlighet med provtyp visas i **Tabell 14**.

Tabell 13. Jämförelse av PlexPCR [®] VHS ₍₅₅₀₎ -kittet och PHL-interna PCR-analyser i realtid									
		PHL interna PCR-analyser i realtid							
		HSV-1-resultat		HSV-2-resultat		VZV-resultat		<i>T. pallidum</i> -resultat	
		Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
PlexPCR [®] VHS ₍₅₅₀₎	Positiv	83	1	70	1	47	1	21	0
	Negativ	2	341	0	356	0	379	0	406
Totalt		85	342	70	357	47	380	21	406
Sensitivitet		97,7% (95 % CI 91,8–99,7 %)		100,0% (95 % CI 94,9–100,0%)		100,0% (95 % CI 92,5–100,0%)		100,0% (95 % CI 83,9–100%)	
Specificitet		99,7% (95 % CI 98,4–100,0%)		99,7% (95 % CI 98,5–100,0%)		99,7% (95 % CI 98,5–100,0%)		100,0% (95 % CI 99,1–100,0%)	

95 % CI–95 % konfidensintervall

Tabell 14. Klinisk resultatanalys i enlighet med provtyp					
Prov	HSV-1	HSV-2	VZV	<i>T. pallidum</i>	Negativ
Genital	73/75	66/66	0/0	21/21	190/190
Anal/rektal	10/10	3/3	1/1	0/0	12/13
Icke-genital	0/0	0/0	46/46	0/0	0/0

16.1.2 Klinisk studie 2

En prospektiv retrospektiv klinisk studie genomfördes vid Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory (VIDRL), Melbourne, Australien. Prover samlades in från januari till april 2018 och baserat på kliniska laboratorieresultat valdes 156 positiva och 54 negativa svabbprover för att inkluderas i studien. De 210 proverna bestod av 52 anala/rektala svabbar, 131 genitala svabbar, 2 genitala/anala/rektala svabbar, 1 genital/icke-genital svabb, 1 genital/icke-genital/oral svabb, 3 genitala/orala svabbar, 9 icke-genitala svabbar, 10 orala svabbar och 1 icke-platsspecifik svabb. Prover extraherades med QIAcube HT-extraktionsplattformen (Qiagen) med QIAamp 96 Virus QIAcube HT-kittet och QIAamp 96 Virus QIAcube HT.QSP-protokollet. 200 µL prov extraherades och den slutliga elueringsvolymen var 60 µL. Prover testades i 20 µL reaktioner på LC480 II-instrumentet med hjälp av **PlexPCR**[®] VHS₍₆₁₀₎-kittet.

Prestandan hos **PlexPCR**[®] VHS-kittet jämfördes med kliniska laboratorieresultat från intern realtid PCR vid VIDRL med det interna resultatet som det verkliga resultatet. Känslighet och specificitet för **PlexPCR**[®] VHS-kittet visas i **Tabell 15**. Analys av resultaten i enlighet med provtyp visas i **Tabell 16**.

Tabell 15. Jämförelse av <i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₁₀₎ -kittet och VIDRL-interna PCR-analyser i realtid									
		VIDRL interna PCR-analyser i realtid							
		HSV-1-resultat		HSV-2-resultat		VZV-resultat		<i>T. pallidum</i> -resultat	
		Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
<i>PlexPCR</i> [®] VHS ₍₆₁₀₎	Positiv	56	2	48	2	2	0	50	0
	Negativ	0	152	2	158	0	208	0	160
Totalt		56	154	50	160	2	208	50	160
Sensitivitet		100,0% (95 % CI 93,6-100,0%)		96,0% (95 % CI 86,3-99,5%)		100,0% (95 % CI 15,8-100,0%)		100,0% (95 % CI 92,9-100,0%)	
Specifitet		98,7% (95 % CI 95,4-99,8%)		98,8% (95 % CI 95,6-99,8%)		100,0% (95 % CI 98,2-100,0%)		100,0% (95 % CI 97,7-100,0%)	

95 % CI–95 % konfidensintervall

Tabell 16. Klinisk resultatanalys i enlighet med provtyp					
Prov	HSV-1	HSV-2	VZV	<i>T. pallidum</i>	Negativ
Anal/rektal	16/16	13/13	0/0	9/9	15/15
Genital	34/34	31/32	1/1	31/31	33/34
Genital/anal/rektal	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0
Genital/icke-genital	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Genital/icke-genital/oral	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0
Genital/oralt	0/0	0/0	0/0	3/3	0/0
Icke-genital	2/2	3/3	0/0	1/1	3/3
Oral	4/4	0/1	0/0	3/3	2/2

16.2 Analytisk prestanda

16.2.1 Reproducerbarhet och repeterbarhet

Reproducerbarheten och repeterbarheten för *PlexPCR*[®] VHS-paketet bedömdes med en syntetisk mall för HSV-1, HSV-2, VZV och *T. pallidum* vid 3x LOD-kopior per reaktion. Experimenten utfördes på 7500 Fast.

För att fastställa variabiliteten från sats till sats, testades två satser, körda på en maskin och hanterade av en användare (Tabell 17). De två satserna visade god reproducerbarhet med variationskoefficient (%CV) mellan 1,56–1,94 %.

Tabell 17. Variabilitet från sats till sats				
	Genomsnittlig Cq	STDEV	% CV	Antal prover
HSV-1 12 kopior	26,0	0,50	1,94	12/12
HSV-2 36 kopior	25,0	0,43	1,71	12/12
VZV 48 kopior	24,0	0,37	1,56	12/12
<i>T. pallidum</i> 24 kopior	25,2	0,47	1,87	12/12

För att fastställa variabilitet från dag till dag, utfördes testning under tre dagar av en användare på samma maskin (Tabell 18). De tre körningarna visade god reproducerbarhet mellan olika dagar med variationskoefficient (%CV) mellan 1,45–2,33 % för alla mål.

Tabell 18. Variabilitet från dag till dag				
	Genomsnittlig Cq	STDEV	% CV	Antal prover
HSV-1 12 kopior	26,2	0,60	2,29	18/18
HSV-2 36 kopior	24,7	0,36	1,45	18/18
VZV 48 kopior	24,1	0,40	1,64	18/18
<i>T. pallidum</i> 24 kopior	25,1	0,58	2,33	18/18

För att fastställa variabilitet från körning till körning, jämfördes tre körningar av realtids-PCR, utförda på samma dag av samma användare (Tabell 19). De tre körningarna visade god reproducerbarhet med variationskoefficient mellan 0,88-2,05 %.

Tabell 19. Variabilitet från körning till körning				
	Genomsnittlig Cq	STDEV	% CV	Antal prover
HSV-1 12 kopior	26,5	0,50	1,89	18/18
HSV-2 36 kopior	24,7	0,22	0,88	18/18
VZV 48 kopior	24,1	0,37	1,53	18/18
<i>T. pallidum</i> 24 kopior	25,1	0,51	2,05	18/18

För att fastställa variabiliteten mellan användare, jämfördes två körningar från två användare (Tabell 20). De två körningarna från olika användare visade god reproducerbarhet med variationskoefficient mellan 0,96–2,73 %.

Tabell 20. Användarvariabilitet				
	Genomsnittlig Cq	STDEV	% CV	Antal prover
HSV-1 12 kopior	25,9	0,71	2,73	12/12
HSV-2 36 kopior	24,8	0,24	0,96	12/12
VZV 48 kopior	24,1	0,45	1,86	12/12
<i>T. pallidum</i> 24 kopior	25,2	0,30	1,18	12/12

För att fastställa variabiliteten mellan instrument, jämfördes två körningar från två maskiner, utförda av samma användare (Tabell 21). Körningarna från olika instrument visade god reproducerbarhet med variationskoefficient mellan 1,27–3,49 %.

Tabell 21. Instrumentvariabilitet				
	Genomsnittlig Cq	STDEV	% CV	Antal prover
HSV-1 12 kopior	26,1	0,91	3,49	12/12
HSV-2 36 kopior	24,9	0,32	1,27	12/12
VZV 48 kopior	24,1	0,41	1,69	12/12
<i>T. pallidum</i> 24 kopior	25,0	0,38	1,53	12/12

För att fastställa variabiliteten inom körning, jämfördes tre försök, inställda separat av samma användare genom körning av varje mål på samma platta (Tabell 22). De tre experimenten visade god reproducerbarhet med variationskoefficient mellan 1,28–2,54 %.

Tabell 22. Variabilitet inom körning				
	Genomsnittlig C _q	STDEV	% CV	Antal prover
HSV-1 12 kopior	25,9	0,66	2,54	18/18
HSV-2 36 kopior	24,4	0,31	1,28	18/18
VZV 48 kopior	24,3	0,42	1,74	18/18
<i>T. pallidum</i> 24 kopior	25,0	0,37	1,47	18/18

16.2.2 Analytisk sensitivitet

Den analytiska känsligheten hos **PlexPCR**[®] VHS-kittet på 7500 Fast fastställdes genom att köra begränsade utspädningsserier med en syntetisk mall för HSV-1, HSV-2, VZV och *T. pallidum*. Känsligheten för varje mål fastställdes som antalet kopior per reaktion med ≥ 95 % detektion som visas i **Tabell 23**.

Tabell 23. Analytisk sensitivitet	
	Analytisk sensitivitet (kopior/reaktion)
HSV-1	4
HSV-2	12
VZV	20
<i>T. pallidum</i>	8

16.2.3 Analytisk specificitet

PlexPCR[®] VHS-kittet utformades specifikt för målorganismer genom att kontrollera homologi med icke-målorganismer i offentliga sekvensdatabaser. Specificitetstest för utvalda organismer visade inte korsreaktivitet (**Tabell 24**). Experimenten utfördes på 7500 Fast.

Tabell 24. Analytisk specificitet		
Organism	Källa	Testkoncentration (kopior/reaktion)
<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>	Kliniskt isolat	10 ⁴
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Kliniskt isolat	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>Chlamydia 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
Humant herpesvirus 6	Vircell	10 ⁴
Epstein-Barr-virus (humant herpesvirus 4)	Vircell	10 ⁴
Cytomegalovirus (humant herpesvirus 5)	Vircell	10 ⁴

16.2.4 Konkurrensstörning

Måldetektering testades med **PlexPCR**[®] VHS-kittet i kontrivprover som simulerar saminfektioner för att studera konkurrenskraftig interferens. Detektering av syntetmall för HSV-1, HSV-2, VZV och *T. pallidum* vid låga koncentrationer (3x LOD-kopior per reaktion) jämfördes med detektering i blandade prover spikade med hög koncentration av ett annat mål. Experimenten utfördes på 7500 Fast. Alla mål upptäcktes korrekt och ingen konkurrenskraftig interferens observerades (**Tabell 25**).

Tabell 25. Konkurrensstörning							
Mål med låg koncentration		Konkurrenskraftig interferens (hög koncentration)		Antal detekterade prover			
Mål	Koncentration (kopior/reaktion)	Mål	Koncentration (kopior/reaktion)	HSV-1	HSV-2	VZV	<i>T. pallidum</i>
HSV-1	12	--	--	3/3	0/3	0/3	0/3
		HSV-2	10 000	3/3	3/3	0/3	0/3
		VZV	10 000	3/3	0/3	3/3	0/3
		<i>T. pallidum</i>	10 000	3/3	0/3	0/3	3/3
HSV-2	36	--	--	0/3	3/3	0/3	0/3
		HSV-1	10 000	3/3	3/3	0/3	0/3
		VZV	10 000	0/3	3/3	3/3	0/3
		<i>T. pallidum</i>	10 000	0/3	3/3	0/3	3/3
VZV	48	--	--	0/3	0/3	3/3	0/3
		HSV-1	10 000	3/3	0/3	3/3	0/3
		HSV-2	10 000	0/3	3/3	3/3	0/3
		<i>T. pallidum</i>	10 000	0/3	0/3	3/3	3/3
<i>T. pallidum</i>	24	--	--	0/3	0/3	0/3	3/3
		HSV-1	10 000	3/3	0/3	0/3	3/3
		HSV-2	10 000	0/3	3/3	0/3	3/3
		VZV	10 000	0/3	0/3	3/3	3/3

16.2.5 Potentiellt interferande substanser

Effekten av potentiellt störande ämnen på **PlexPCR**[®] VHS-kittet bedömdes i konstlade prover genom att mäta prestandan av Internal Control (Intern kontroll), som övervakar extraktion och realtids-PCR-hämning. Tre substanser tillsattes till negativa prover (endast PBS), och de extraherades med de *interna kontrollcellerna*. En mindre förändring ($\Delta Cq < 0,5$) i Internal Control (Intern kontroll)-signalen observerades i närheten av substanserna som inte påverkade detektion (**Tabell 26**).

Tabell 26. Potentiellt interferande substanser					
Ämne	Koncentration	IC Genomsnittlig Cq	STDEV	ΔCq	Antal detekterade prover
--	--	26,6	0,78	--	4/4
Albumin	10 mg/mL	26,9	0,31	0,31	3/3
Helblod	10 % (v/v)	27,0	0,14	0,38	3/3
EDTA	3 mM	27,0	0,35	0,43	3/3

17 Kundsupport och teknisk support

Kontakta teknisk service för frågor om reaktionsinställning, cykliska förhållanden och annat.

Tel.: +61 2 9209 4170, E-post: tech@speedx.com.au

18 Referenser

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 Bilaga 1: LightCycler® 480 Instrument II

Följande information är baserad på *LightCycler 480 Software (version 1.5)*.

PlexPCR® VHS₍₆₁₀₎-kittet innehåller färgämnen för LightCycler® 480 Instrument II. **PlexPCR®** Colour Compensation (Färgkompensation) (kat.nr 90001)-kittet måste köras och tillämpas för LC480 II-analys (se **avsnitt 19.2**). Detta kit kan erhållas på begäran.

19.1 Programmera LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II)

Detection Format (Detektionsformat)

Skapa ett anpassat **Detection Format** (Detektionsformat)

Open Tools (Öppna verktyg) > Detection Formats (Detektionsformat)

Skapa ett nytt detektionsformat och ge namnet "SpeedX PlexPCR" (kan skapas under genererandet av SpeedX Colour Compensation-filen (Färgkompensation)) (se **Figur 2**)

För **Val av filterkombination** välj följande (Excitation-Emission): Som visas i **Tabell 27**:

Tabell 27. Filter Combinations (Filterkombinationer) [^]						
LC480 II	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

[^] Dessa Filter Combinations (Filterkombinationer) är standardnamn för kanalerna

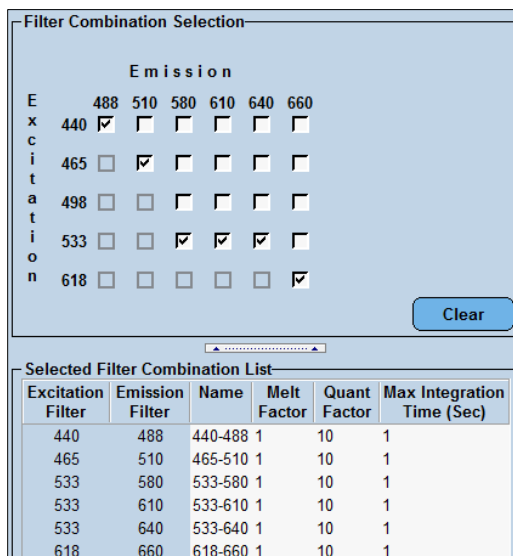
Ställ in **Selected Filter Combination List (Vald filterkombinationslista)** för alla kanaler som:

Melt Factor (Smältfaktor): 1

Quant Factor (Kvantfaktor): 10

Max Integration Time (sec) (Max. integrationstid (s)): 1

Figur 2. Anpassat SpeedX detektionsformat



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

Instrument Settings (Instrumentinställningar)

Skapa ett anpassat **Detection Format** (Detektionsformat)

Open Tools (Öppna verktyg) > Instruments (Instrument)

För **Instrument Settings (Instrumentinställningar)** > välj **Barcode Enabled (Streckkod aktiverad)**

Upplägg av experiment

Välj **New Experiment (Nytt experiment)**

På fliken **Run Protocol (Kör protokoll)**

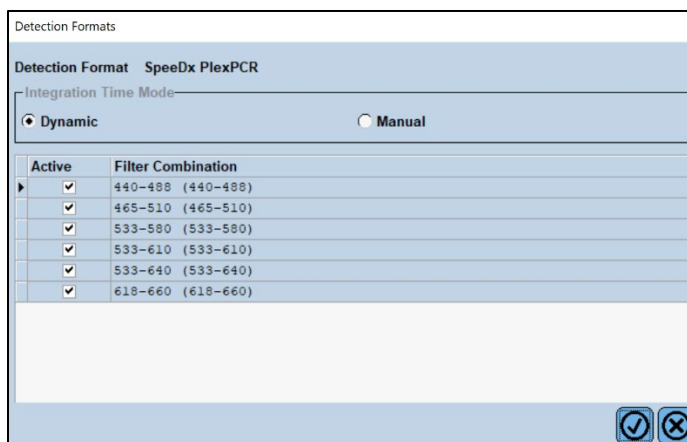
För **Detection Format (Format för detektering)** välj den anpassade 'SpeedX PlexPCR' (Figur 3)

Välj **Customize (Anpassa) >**

Välj **Integration Time Mode > Dynamic (Läge för integreringstid > Dynamisk)**

Välj alla Aktiva **Kombinationer av filter** som visas i **Figur 3**.

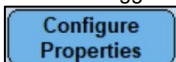
Figur 3. Anpassa detekteringsformat



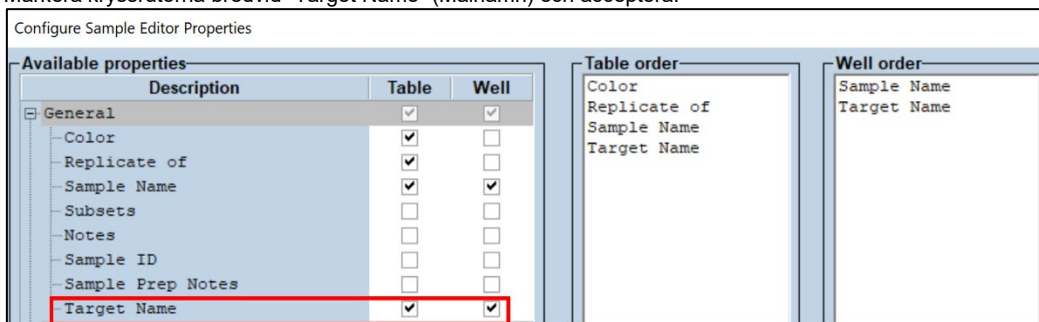
För att möjliggöra automatisk provdetektering i analysprogramvaran, lägg till målnamn och tilldela namnetiketter till brunnarna på plattan

Öppna **Sample Editor (Exempel på redigerare)** modul

Om du vill lägga till målnamn väljer du **Configure Properties (Konfigurera egenskaper)**



Markera kryssrutorna bredvid "Target Name" (Målnamn) och acceptera.



Redigera **Målnamn** för varje kanal för att matcha Target Instrument Reference (målinstrumentreferensen) som definierats i Lab Configuration > Assays (Konfiguration av labb > Analysmenyn) i analysprogrammet och visas i **Tabell 28**.

Tabell 28. Kanaler och målnamn för PlexPCR® VHS-mål

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

För att tilldela nametags (namnskyftar), välj brunnen

Redigera **Exempel på namn** att matcha den **Sample Name** (nametag) definierad i Lab Configuration > Assays (Konfiguration av labb > Analyser) meny av analysprogramvaran (se **Avsnitt 22.3**)

Prover ska märkas med namnbrickan som ett prefix. Standardnamntaggar tillhandahålls för kontrollreaktionerna (som visas i **Tabell 29** och **Figur 4**). Ytterligare Namntaggar kan definieras för både vanliga prover och kontroller i analysprogramvaran eller redigerad programvara för att matcha instrumentprogramvaran.

Obs! Namntaggen måste matcha exakt de som tilldelats i körningsfilen.

Tabell 29. Exempel på namntaggar för analysprogramvara

Typ av prov	Standard Prefix (i analysprogramvara)
Vanligt prov	Ingen standard – användardefinierad
Negativ kontroll	NC
Ingen mallkontroll	NTC
Positiv kontroll (alla mål) (Pa) Obs! Använd detta för Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat 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

Figur 4. Provredigerare – Tilldela målnamn och provnamsetiketter till brunnar

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

Ställa **Reaktionsvolym** > 20 µL

Skapa följande program i **Tabell 30** (visas mer detaljerat i **Figur 5 – Figur 8**):

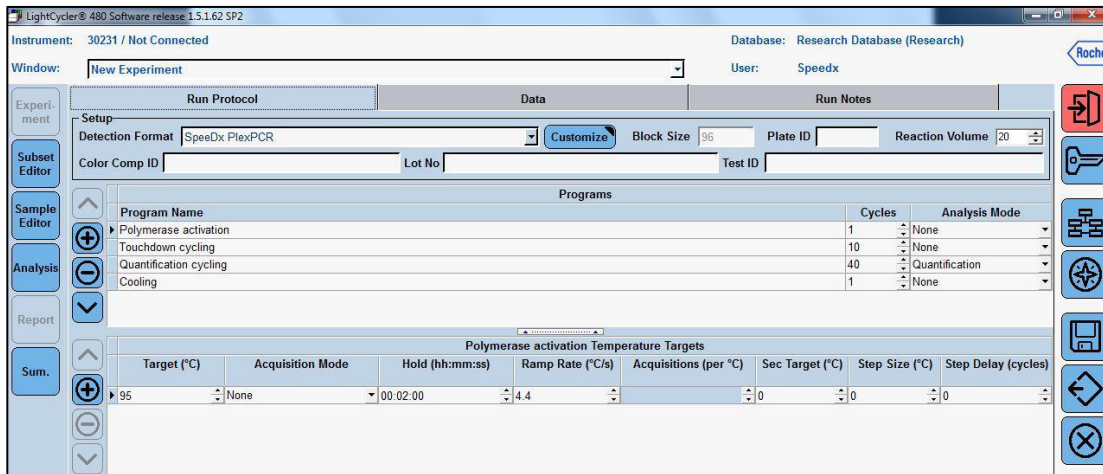
Tabell 30. Program för termocyklning				
Programnamn	Cykler	Mål °C	Hålla	Ramp Hastighet (°C/s) [‡]
Polymerase activation (Aktivering av polymeras)	1	95°C	2 min	4.4
Touch down cycling [§] (Touch down-cykling): Step down (Steg ner) -0,5°C/cykel	10	95°C	5 s	4.4
		61°C – 56,5°C [§]	30 s	2.2
Quantification cycling ⁺ (Kvantifiering av cykler): Förvärv/detektering	40	95°C	5 s	4.4
		52°C ⁺	40 s	2.2
Cooling (Kylning)	1	40°C	30 s	2.2

[‡] Standardramphastighet (96 brunnars platta)

[§] **Step size (Steg storlek):** -0.5°C/cykel, **Target (Sec-mål):** 56°C

⁺ **Analysis mode (Analysläge):** Quantification, **Acquisition mode (Kvantifiering Läge för förvärv):** Single (Singel)

Figur 5. Termocykelprogram – Polymerasaktivering



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

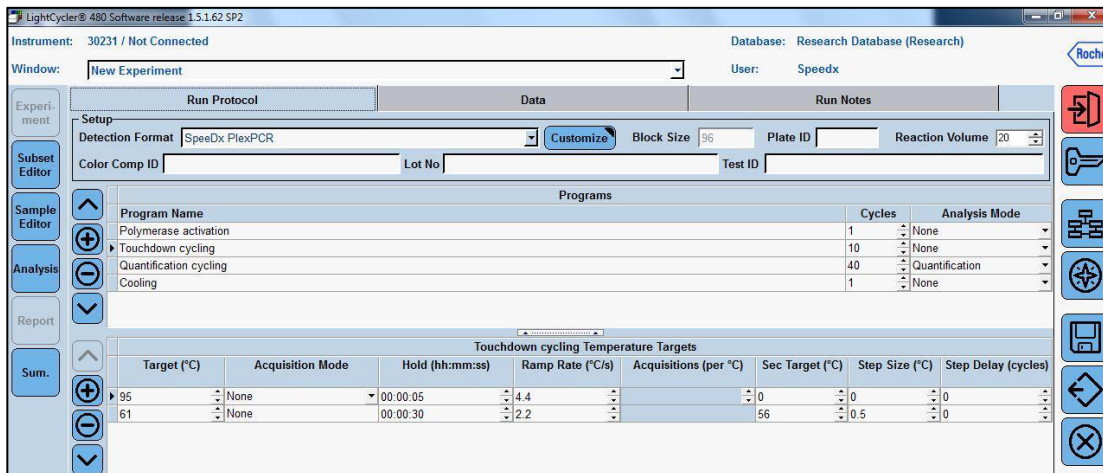
Window: New Experiment

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

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

Polymerase activation 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)
95	None	00:02:00	4.4	0	0	0	0

Figur 6. Termocyklingsprogram – Touchdown-cykling



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

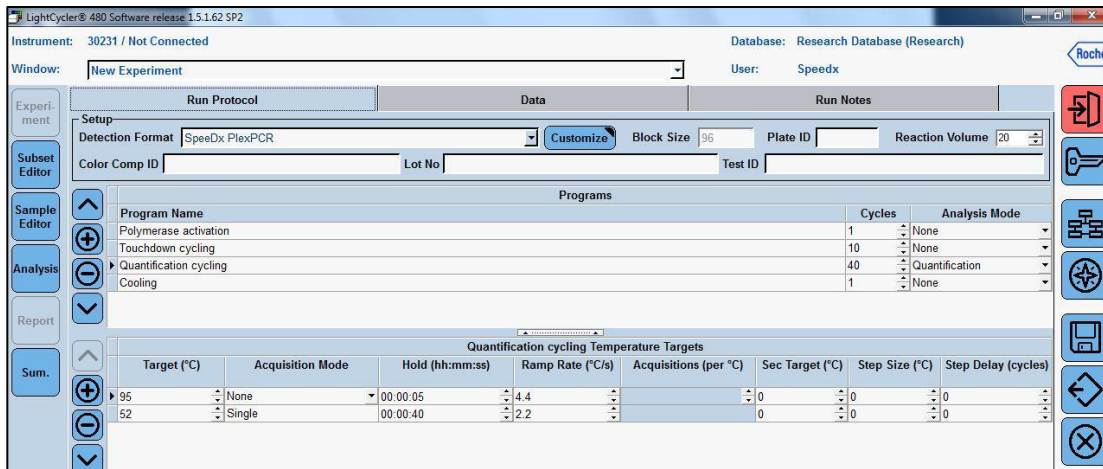
Window: New Experiment

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

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

Touchdown cycling 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)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
61	None	00:00:30	2.2	56	0.5	0	0

Figur 7. Termocykelprogram – Kvantifiering av cykling



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

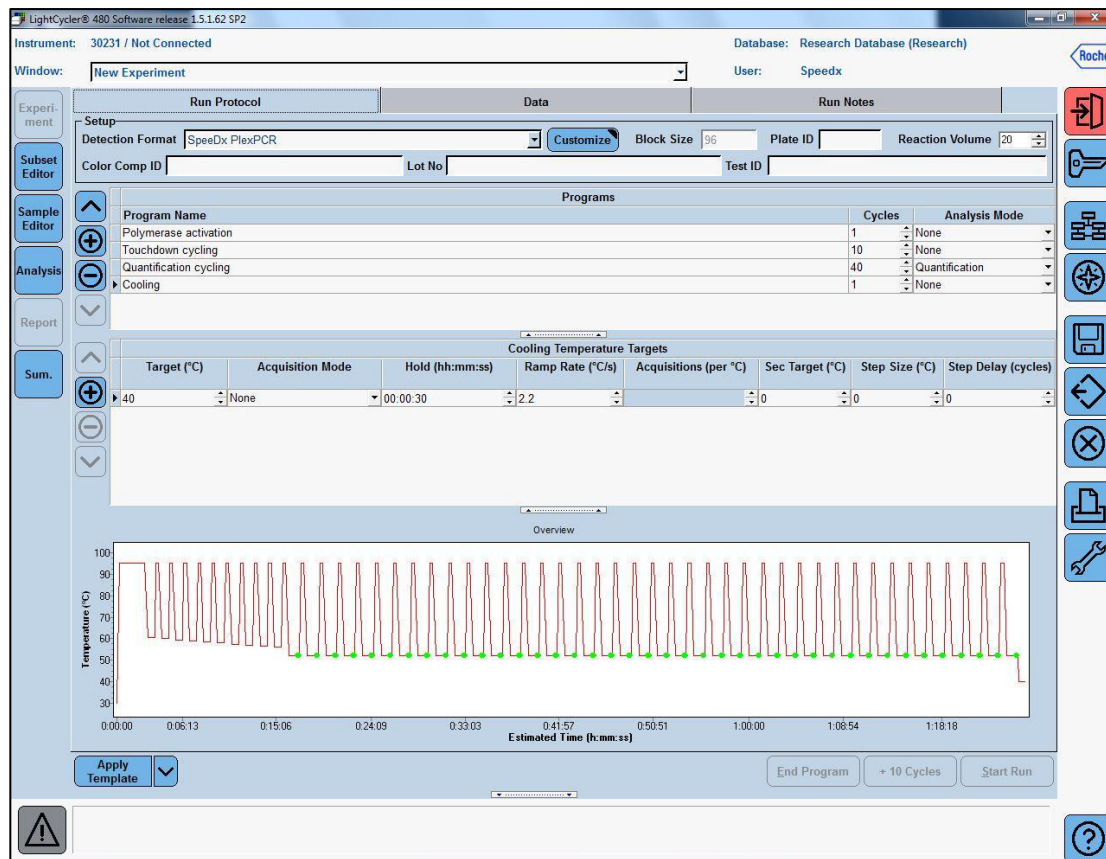
Window: New Experiment

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

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

Quantification cycling 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)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
52	Single	00:00:40	2.2	0	0	0	0

Figur 8. Termocykelprogram – Kylning



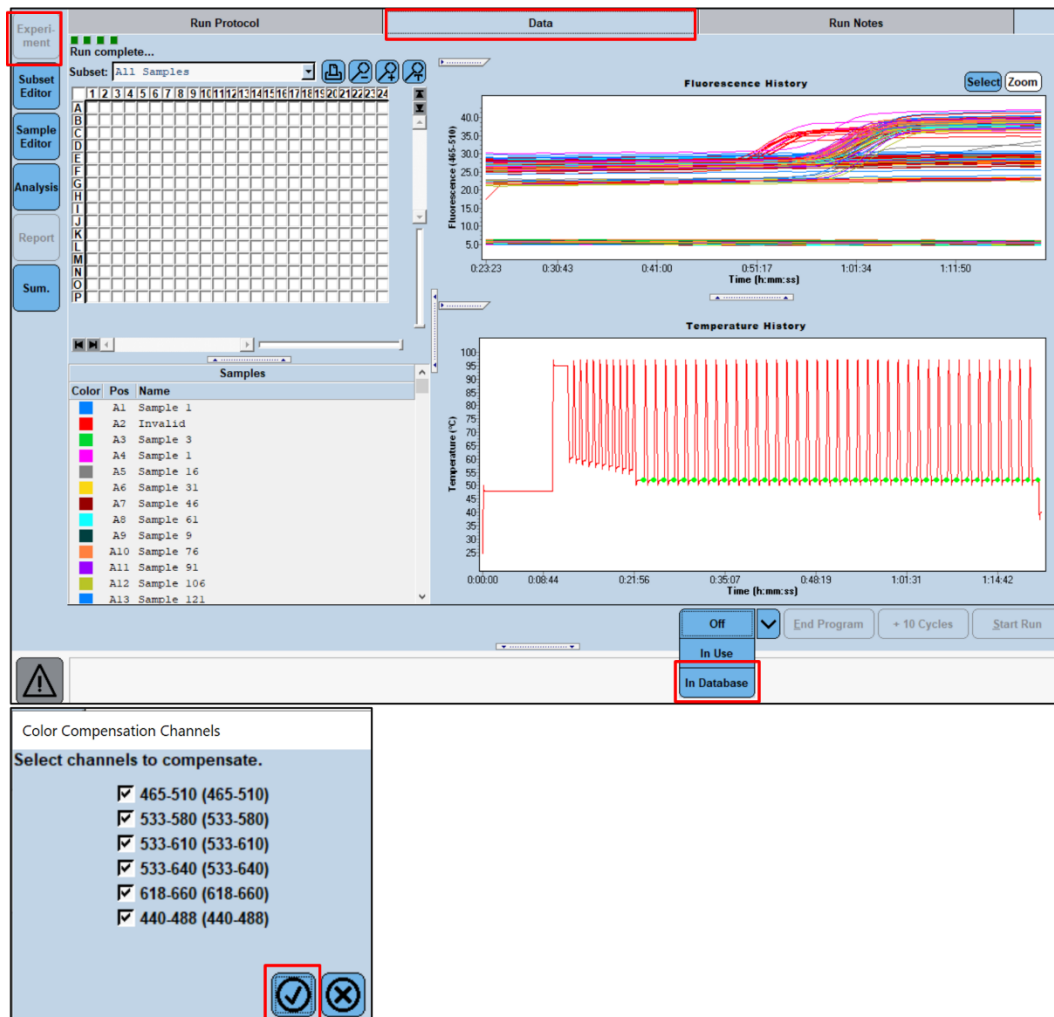
> Börja springa

När cykelprogrammet är klart bifogar du CC-objektet till löpfilen som visas i **Figur 9** och exporterar som en .IXO-fil för analys i **PlexPCR®** VHS-analysmjukvara. Se **avsnitt 19.2** för instruktioner om hur du skapar CC-objektet och lagrar det i LightCycler 480-programvarans databas.

Välj **Experiment > Data**

Klicka på rullgardinsmenyn bredvid **Colour Comp (Off)** och välj **In Database**.

Figur 9. Bifoga CC-objektet till körningsfilen



The screenshot shows the SpeedX software interface during a run. The 'Data' tab is active, displaying two plots: 'Fluorescence History' and 'Temperature History'. The 'Fluorescence History' plot shows fluorescence intensity (465-510) over time (0:23:23 to 1:11:50). The 'Temperature History' plot shows temperature (°C) over time (0:00:00 to 1:14:42). The 'Samples' list shows 13 samples with their respective colors and positions. The 'Color Compensation Channels' dialog box is open, showing a list of channels to be compensated for, with checkboxes for each channel. The 'In Database' button is highlighted with a red box.

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)

Buttons:

Välj lämpligt CC-objekt, se till att alla kanaler är markerade och välj **fästing** ikon 

Välj ikonen **Save (Spara)** 

Välj ikonen **Export (Exportera)** 

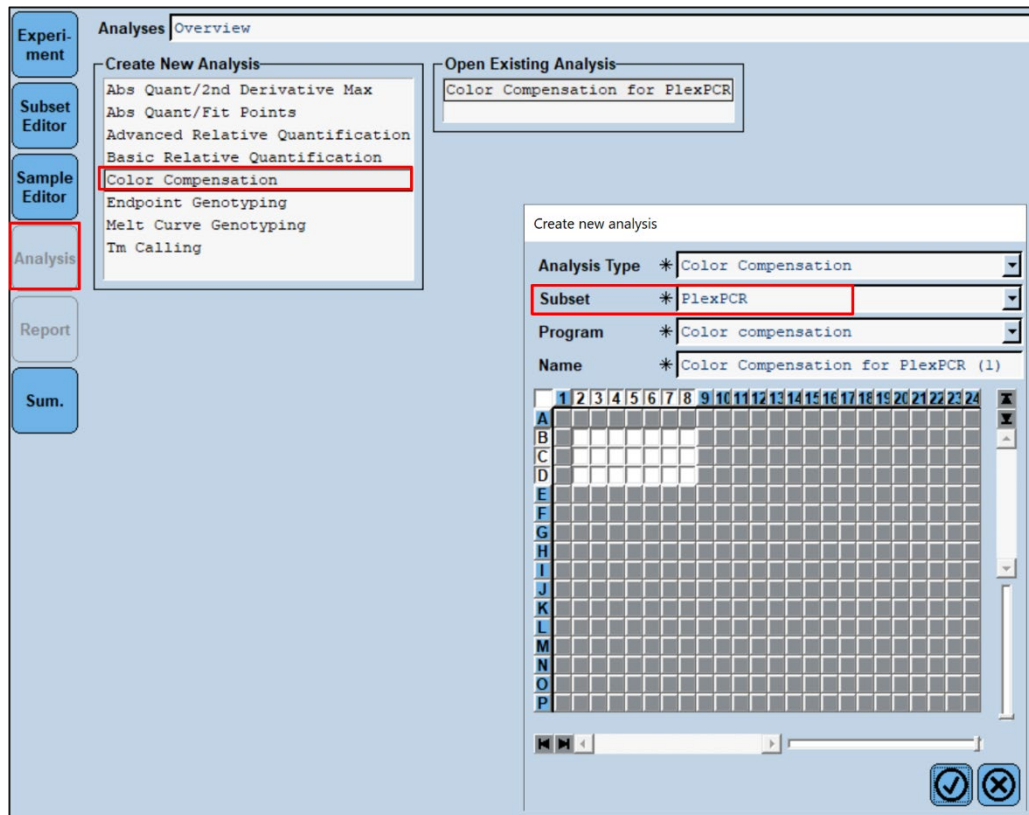
Spara på en lättidentifierbar plats

19.2 Färgkompensation för LightCycler® 480 Instrument II

Obs! *PlexPCR*® färgkompensation (kat. nr 90001) -kitet måste köras och användas för LC480 II-analys. Detta kit kan levereras på begäran.

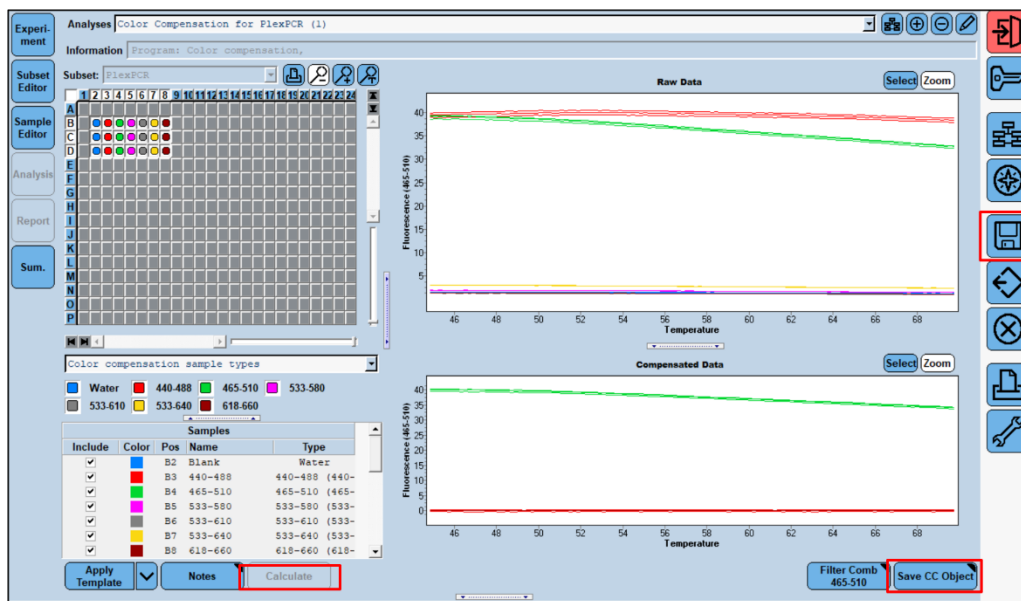
Analysera färgkompensationsfilen via **Analysis (Analys) > Compensation (färgkompensation)** och välj rätt delmängd, som visas i **Figur 10**.

Figur 10. Analys – Färgkompensation



Välj **Calculate (Beräkna)** (Figur 11).

Figur 11. Beräkna och spara CC-objekt



Se bruksanvisningen för PlexPCR-färgkompensation (IF-IV0001) för mer information om hur du säkerställer att färgkompensationsfilen har skapats korrekt.

Välj **Save (Spara)**



19.3 Tolkning av resultat

Tolkning av data kräver analysprogramvaran **PlexPCR**® VHS (LC480). Analysprogramvaran kan tillhandahållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Se **avsnitt 22** för instruktioner om hur du använder analysprogramvaran **PlexPCR**® VHS (LC480).

20 Bilaga 2: Applied Biosystems® 7500 Fast

Följande information baseras på 7500 programvara v2.3.

PlexPCR® VHS₍₅₅₀₎-kittet innehåller färger för Applied Biosystems® (ABI) 7500 Fast. Standardfärgkalibreringar används för alla kanaler. Anpassad kalibrering krävs inte.

20.1 Programmering av Applied Biosystems® 7500 Fast

Välj **Advanced Setup (Avancerad konfiguration)**

I **Setup (Konfiguration)** > öppna **Experiment Properties (Experimentets egenskaper)** och välj följande

Name the experiment (Namnge experimentet)

Instrument (Instrument) > 7500 Fast (96 Wells)

Type of experiment (Typ av experiment) > Quantitation (Kvantifiering) – Standard Curve (Standardkurva)

Reagents (Reagenser) > Other (Övriga)

Ramp Speed (Ramphastighet) > Standard

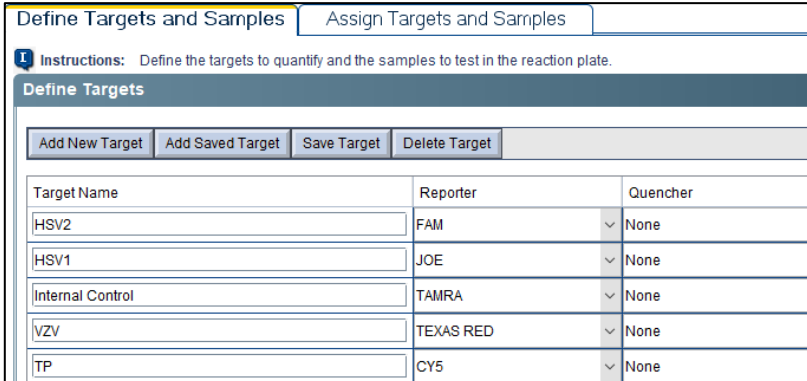
I **Setup (Konfiguration)** > öppna **Plate Setup (Plattkonfiguration)**

På fliken **Define Targets and Samples (Definiera mål och prov)** >

Definiera mål som visas nedan i **Tabell 31** och **Figur 12** (definiera färger efter behov)

Tabell 31. Definiera mål		
Målnamn	Reporter	Släckare
HSV-2	FAM	None (Ingen)
HSV-1	JOE	None (Ingen)
VZV	Texas Red	None (Ingen)
IC	TAMRA	None (Ingen)
<i>T. pallidum</i>	Cy5	None (Ingen)

Figur 12. Definiera mål och exempel



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

Definiera exempel (definiera färger efter behov)

För att aktivera automatisk sample detektering i analysmjukvaran, se till att Target name (målnamnet) (visas i **Tabell 32**) matchar den target instrument reference (målinstrumentreferens) som definierats i menyn **Lab Configuration > Assays (Labkonfiguration > Analyser)** i analysprogramvaran.

Dessutom måste **sample nametags** (provnamnsskyltar) tilldelas brunnarna på plattan.

I **Setup (Inställningar)** > öppna **Plate Setup (Plattinställningar)**

I fliken **Define Targets and Samples (Definiera mål och prover)** >

Define Samples (Definiera prover)

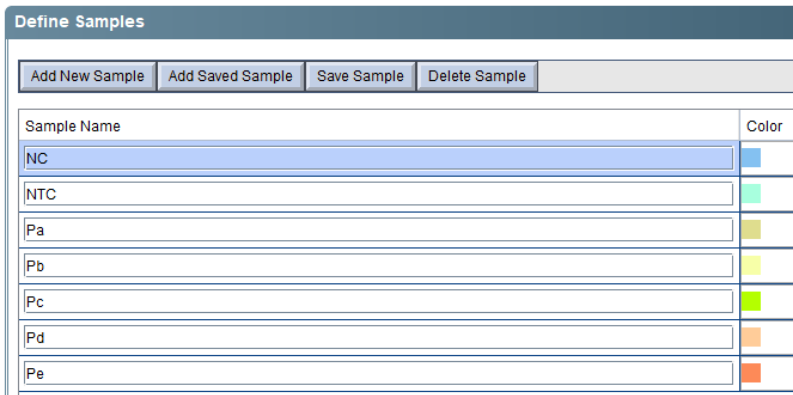
Redigera **Exempel på namn** att matcha den **Sample Name** (nametag) definierad i den **Lab Configuration > Assays (Konfiguration av labb > Analyser)** menu enu av analysprogramvaran (se **avsnitt 22.3**)

Prover bör vara märkt med namnbrickan som ett prefix. Standardnamntaggar tillhandahålls för kontrollreaktionerna (som visas i **Tabell 32** och **Figur 13**). Ytterligare namnskyltar kan definieras för både vanliga prover och kontroller i analysprogramvaran eller redigerad programvara för att matcha instrumentprogramvaran.

Obs! Namntaggen måste matcha exakt de som tilldelats i körningsfilen.

Tabell 32. Exempel på namntaggar för analysprogramvara	
PlexPCR® VHS (7500)	
Typ av prov	Standard Prefix (i analysprogramvara)
Vanligt prov	Ingen standard – användardefinierad
Negativ kontroll	NC
Ingen mallkontroll	NTC
Positiv kontroll (alla mål) (Pa) Obs! Använd detta för Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat 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

Figur 13. Definiera prover – Tilldela målnamn och provnamnskyltar till brunnar



Sample Name	Color
NC	Blue
NTC	Light Green
Pa	Yellow
Pb	Light Yellow
Pc	Light Green
Pd	Light Orange
Pe	Orange

I fliken **Assign Targets and Samples (Tilldela mål och prover)** >

Välj brunnar och tilldela mål och prover till de valda brunnarna

Välj **Passive reference > None (Passiv referens > Ingen)**

I **Setup (Inställningar)** > öppna **Run Method (Kör metod)**

Ställa **Reaction Volume Per Well (Reaktionsvolym per brunn)** > 20 µL

Skapa följande program i **Tabell 33** (visas mer detaljerat i Grafisk vy (**Figur 14** och **Figur 15**) och tabellvy (**Figur 16**):

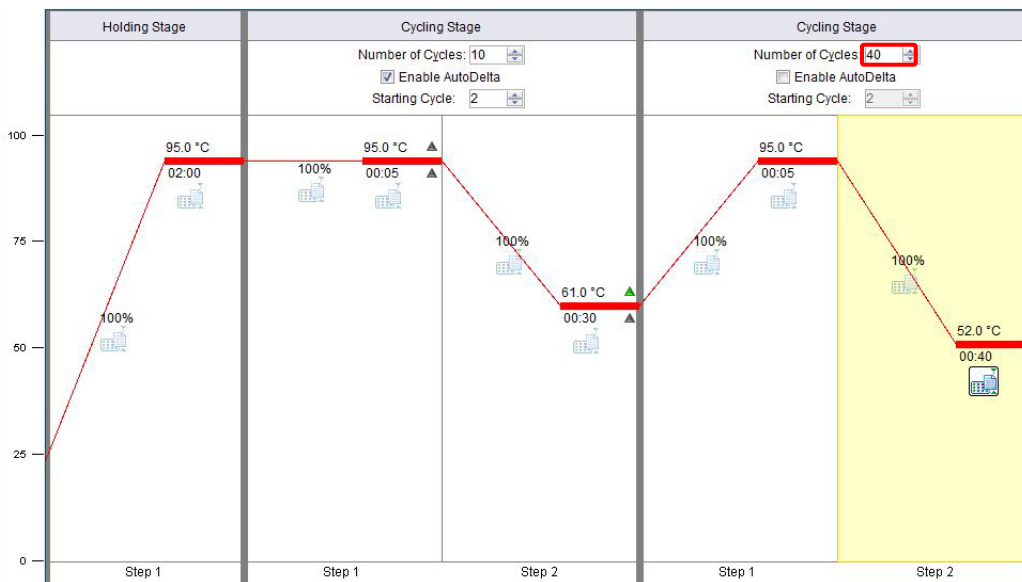
Tabell 33. Termocyklingsprogram				
Programnamn	Cycles (cykler)	Target °C (Mål-°C)	Hold (Pausad)	Ramp*
Polymerase activation (Polymerasaktivering)	1	95 °C	2 min	100 %
Touch down cycling (Nedåtgående cykling): Step down (Gå ned) -0,5°C/cykel [⊖]	10	95 °C	5 s	100 %
		61–56,5 °C [⊖]	30 s	100 %
Quantification cycling (Kvantifieringscykling)*: Acquisition/Detection (Insamling/detektion)	40	95 °C	5 s	100 %
		52 °C ⁺	40 s	100 %

* Standard ramphastighet

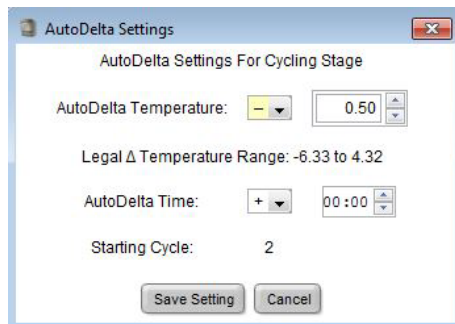
⊖ Enable AutoDelta (Aktivera AutoDelta): -0,5°C/cykel

+ Collect data on hold (Pausad insamling av data)

Figur 14. Kör metod – Grafisk vy



Figur 15. Kör metod – Graphical View (Grafisk vy) – Enable AutoDelta (Aktivera AutoDelta)



Figur 16. Kör metod – Tabular View (Tabellvy)

	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

I **Setup (Konfiguration)** > öppna **Run Method (Kör metod)**

Välj **Start Run (Starta körning)**

20.2 Tolkning av resultat

Datatorolkning kräver analysprogramvaran **PlexPCR® VHS (7500)**. Analysprogramvaran kan erhållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Se **avsnitt 22** för instruktioner för användning av **PlexPCR® VHS**-analysprogramvara (7500).

21 Bilaga 3: Bio-Rad CFX96 Dx™ och CFX96 Touch™ PCR-system i realtid

Den följande informationen baseras på Bio-Rad CFX Manager v3.1

PlexPCR® VHS₍₆₇₅₎-kittet innehåller färger CFX96 Real-Time PCR System. Standardfärgkalibreringar används för alla kanaler. Anpassad kalibrering krävs inte.

21.1 Programmera CFX96 Dx och CFX96 Touch Real-time PCR System

Välj **View (vy)** > Öppna **Run Setup (Kör inställning)**

I fliken **Run Setup (Kör inställning)** > **Protocol (Protokoll)** > Välj **Create New (Skapa nytt)**

I **Protocol Editor (Protokollredigerare)** (se **Figur 17**):

Ställ in **Sample Volume (Provvoly)** > 20 µL

Skapa följande termocykelprogram i **Tabell 34** och spara som 'SpeedX PCR'. Det här protokollet kan väljas för framtida körningar.

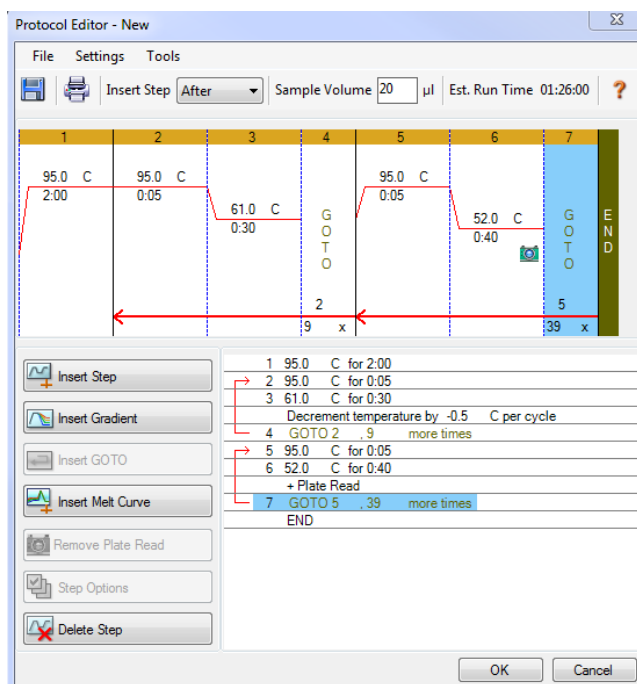
För nedåtgående cykling, välj Steg 3 och välj **Step options (Stegalternativ)** > Increment (Ökning): -0,5°C/cykel (visas mer detaljerat i **Figur 18**).

Tabell 34. Termocyklingsprogram			
Programnamn	Cycles (cykler)	Target °C (Mål-°C)	Hold (Pausad)
Polymerase activation (Polymerasaktivering)	1	95 °C	2 min
Touch down cycling (Nedåtgående cykling) ^δ : Step down (Gå ned) -0,5°C/cykel	10	95 °C	5 s
		61 – 56,5 °C ^δ	30 s
Quantification cycling (Kvantifieringscykling) ⁺ : Acquisition/Detection (Insamling/detektion)	40	95 °C	5 s
		52 °C ⁺	40 s

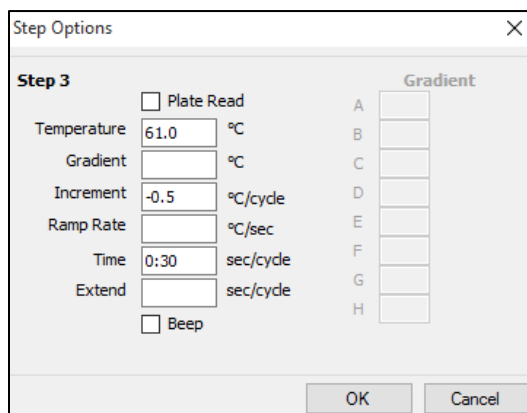
^δ **Step options (Stegalternativ)** > Increment (Delprov): -0,5°C/cykel

⁺ **Lägg till plattavläsning till steg**

Figur 17. Protokollredigerare



Figur 18. Protokollredigerare – Stegalternativ



På fliken **Run Setup (Körningskonfiguration) > Plate (Platta)**

Välj **Create New (Skapa ny)**

Välj **Settings (Inställningar) > Plate Type (Platttyp) > välj BR Clear (BR klar)**

Ställ in **Scan mode (Skanningsläge) > All channels (Alla kanaler)**

Select Fluorophores (Välj Fluorophores (Fluoroforer)) > FAM, HEX, Texas Red, Quasar 705, Cy5 (se Tabell 35)

Välj brunnar som innehåller prover och tilldela **Sample Type (Provtyp)** och kontrollera **Load (Ladda)** avseende fluoroforer (FAM, HEX, Texas Red, Quasar 705, Cy5)

Save plate (Spara platta)

Tabell 35. Kanaler för PlexPCR® VHS -mål

Målnamn	HSV-2	HSV-1	VZV	Intern kontroll	<i>T. pallidum</i>
CFX96 channel	FAM	HEX	Texas Red	Quasar 705	Cy5

På fliken **Run Setup (Körningskonfiguration) > Start Run (Starta körning)**

Välj block

Start Run (Starta körning)

För att aktivera automatisk sample detektering i analysmjukvaran, se till att målnamnet och kanalen (visas i **Tabell 35**) matchar den målinstrumentreferens som definierats i menyn **Lab Configuration > Assays** (Labkonfiguration > Analyser) i analysprogramvaran.

Dessutom måste provnamnskytlar tilldelas brunnarna på plattan.

Öppna modulen **Plate Setup** (Plattinställning)

Välj väl

Redigera **Sample Name (Exempel på namn)** att matcha den namntag definierad i den **Lab Configuration > Assays (Konfiguration av labb > Analyser)** modulen i analysprogrammet (se **avsnitt 22.3**)

Proverna ska märkas med namnet som prefix. Standardnamntaggar tillhandahålls för kontrollreaktionerna (som visas i **Tabell 36** och **Figur 19**). Ytterligare namnskytlar kan definieras för både vanliga prover och kontroller i analysprogramvaran eller redigerad programvara för att matcha instrumentprogramvaran.

OBS! Namntaggen måste matcha exakt de som tilldelats i körningsfilen.

Tabell 36. Exempel på namntaggar för analysprogramvara	
PlexPCR® VHS (CFX)	
Typ av prov	Standard Prefix (i analysprogramvara)
Vanligt prov	Ingen standard – användardefinierad
Negativ kontroll	NC
Ingen mallkontroll	NTC
Positiv kontroll (alla mål) (Pa) Obs! Använd detta för Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat 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

Figur 19. Plate Editor – Tilldela målnamn och provnamn till brunnar

	1	2
A	Pos	Neg
	HSV-2	HSV-2
	HSV-1	HSV-1
	VZV	VZV
	T. pallidum	T. pallidum
	IC	IC
B	Pos	NTC
	HSV-2	HSV-2
	HSV-1	HSV-1
	VZV	VZV
	T. pallidum	T. pallidum
	IC	IC
C	Pos	Unk
	HSV-2	HSV-2
	HSV-1	HSV-1
	VZV	VZV
	T. pallidum	T. pallidum
	IC	IC
D	Pos	Unk
	HSV-2	HSV-2
	HSV-1	HSV-1
	VZV	VZV
	T. pallidum	T. pallidum
	IC	IC
E	Pos	Unk
	HSV-2	HSV-2
	HSV-1	HSV-1
	VZV	VZV
	T. pallidum	T. pallidum
	IC	IC
	Pe	Sample 3

21.2 Tolkning av resultat

Tolkning av data kräver analysprogramvaran **PlexPCR® VHS (CFX)**. Analysprogramvaran kan tillhandahållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Se **avsnitt 22** för instruktioner om hur du använder analysprogramvaran **PlexPCR® VHS (CFX)**.

22 Bilaga A: Tolkning av resultat med hjälp av *PlexPCR*[®] VHS-analysprogramvara

Datatolkning kräver FastFinder med *PlexPCR*[®] VHS-analysprogram.

Se **Tabell 37** för lämplig analysprogramvara för att möjliggöra rapportering av HSV-1, HSV-2, VZV och *T. pallidum* med *PlexPCR*[®] VHS-kittet. Analysprogramvaran kan erhållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Tabell 37. Analysprogramvara		
Kat.nr	Analysprogramvara*	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 och CFX96 Touch

* Besök webbplatsen <https://www.plexpcr.com/plexpcr-vhs/resources> för att säkerställa att du använder den senaste versionen av analysprogramvaran.

OBS! Följ standardiserad laboratoriepraxis för överföring, rapportering och förvaring av resultat för att förhindra förlust av provresultat.

22.1 FastFinder-plattformen – Minimikrav på IT-utrustning

Analysprogramvaran finns tillgänglig inom FastFinder-plattformen (<https://www.ugentec.com/fastfinder/analysis>). Vi rekommenderar att kunderna använder programvaruplattformen från ett säkert och pålitligt nätverk och en säker och pålitlig dator. Minimikraven för IT för åtkomst och användning av FastFinder-plattformen listas nedan.

Maskinvarukrav

Internetanslutning Kabel eller DSL

Min. skärmpoplösning: 1366x768 pixlar, Optimal 1920 x 1080 pixlar eller högre

Webbläsare som stöds

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

Krav för brandvägg

Följande värdar måste kunna nås via HTTPS (port 443):

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

Om det behövs måste brandväggsundantag konfigureras för dessa värdar. För att få tillgång till allt innehåll i användarhandböcker i appen måste värden *.player.vimeo.com också vara nåbar.

För mer detaljerade instruktioner om **FastFinder** plattform, se **FastFinder Bruksanvisning** tillgängliga från **Support**.

För att komma åt **Support**

- Välj **Support** från listan över menyalternativ på den vänstra sidopanelen
- Välj **Download Instructions For Use here (Ladda ned bruksanvisning här)** i avsnittet **User Documentation (Användardokumentation)**

Support



22.2 Analysplugin (ny användare)

Se **FastFinder Bruksanvisning** för detaljerade instruktioner om hur du ställer in analyser, tillgänglig från **Support**.

FastFinder kan nås direkt via en webbläsare genom att logga in med ditt unika användarnamn och lösenord på <https://customer.fastfinder.app>.

- Välj **Lab Configuration > Assays** (Labkonfiguration > Analyser) i menyn till vänster.
- Välj **Add New Assay (Lägg till Ny analys)**
 - > För LC480 II > Välj **PlexPCR VHS (LC480)** Från listan
 - > För 7500 Fast > Välj **PlexPCR VHS (7500)** från listan
 - > För CFX96 Dx och CFX96 Touch > Välj **PlexPCR VHS (CFX)** från listan.
- Välj **Import Selected (Importerera valda)**



För att aktivera eller avaktivera versioner av analys-plugin-programmet

- > I **General (Allmänt flik)**
- > Navigera till Status
- > Välj **Active** för att aktivera eller inaktivera versionen av analysen

22.3 Exempel på namngivning

Provnamnsetiketter kan tilldelas ett analysplugin för att automatisera detektering av brunnar och provtyper för analys.

Välj **Lab Configuration > Assays** (Labkonfiguration > Analyser) i menyn till vänster

- På **General Fliken (Allmänt)**, navigerar du till **Sample types (Provtyperna)** i tabellen namnskyltar (prefix) och väljer  att lägga till en ny namnskylt
 - > Lägg till önskat ord, akronym eller bokstav i textrutan
 - > Standardnamnskyltar tillhandahålls för kontrollerna. Dessa kan tas bort genom att välja  bredvid namnskylten
- I instrumentprogramvaran (före eller efter att körningen är klar) tilldelar du samma namnetikett till lämpliga brunnar
 - > För **LC480 II** se **avsnittet 19** för instruktioner om programmering av exempelnamnskyltar i körfilen
 - > För **7500 Fast** se **avsnittet 20** för instruktioner om programmering av exempelnamnskyltar i körfilen
 - > För **CFX96 Dx** och **CFX96 Touch** se **avsnittet 21** för instruktioner om programmering av exempelnamnskyltar i körfilen

OBS! Exempel på namnskyltar är skiftlägeskänsliga. Namnskyltarna måste stämma exakt överens med de som tilldelats i körningsfilen.

22.4 Analys

Välj **Analyser** från vänstermenyn för att starta en ny analys

Välj **+ Create New Analysis (Skapa ny analys)** längst upp till höger på skärmen

Sök efter filen som ska laddas upp för analys från en angiven katalog

- Välj körfil (data) från Relevant mapp
 - > Välj **Open (Öppna)**

Analysen kommer att visas inom **Open (Öppna) flik** som en ny rad i tabellen

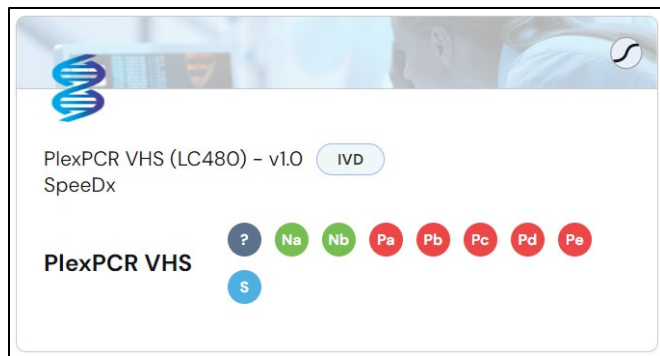
- Om alla namnskyltar har tillämpats och lästs korrekt kommer statusen att visas som **Ready for review (Redo för granskning)**
- Om analysinformationen behöver tilldelas brunnarna manuellt, kommer statusen att visas som **Manual PCR setup required (Manuell PCR-inställning krävs)**

Tilldela analysinformationen till plattan manuellt om provnamngivning inte har ställts in i den Labb **Lab Configuration > Assays (Konfiguration > Analyser)** meny eller sample namn/mål har inte tillämpats i instrumentets programvara

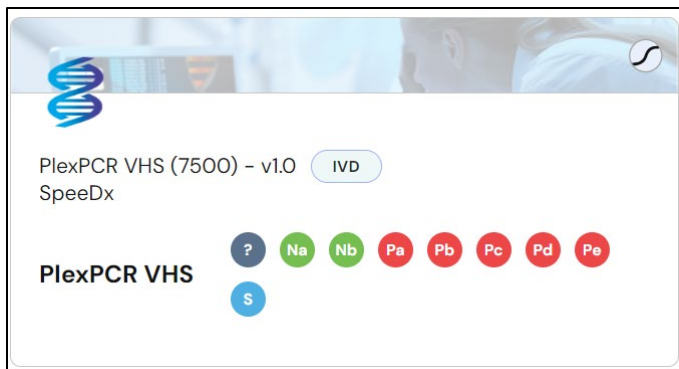
Välj körfilen från **fliken Öppna** inom **Analyser** -menyn.

Plattkonfigurationen visas under **fliken PCR-inställningar** för den öppna analysen

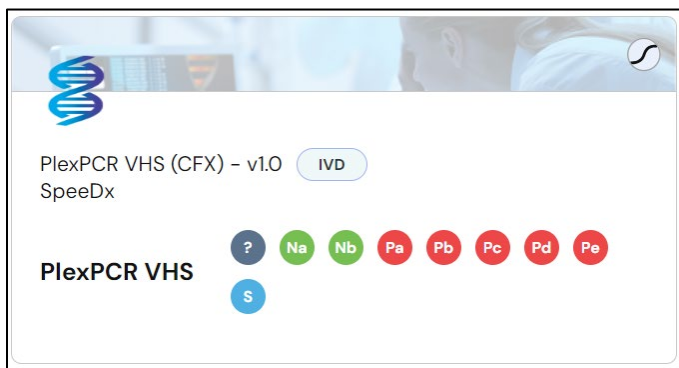
- För **LC480 II** > Välj **PlexPCR VHS (LC480)**



- För **7500 Snabb** > Välj **PlexPCR VHS (7500)**



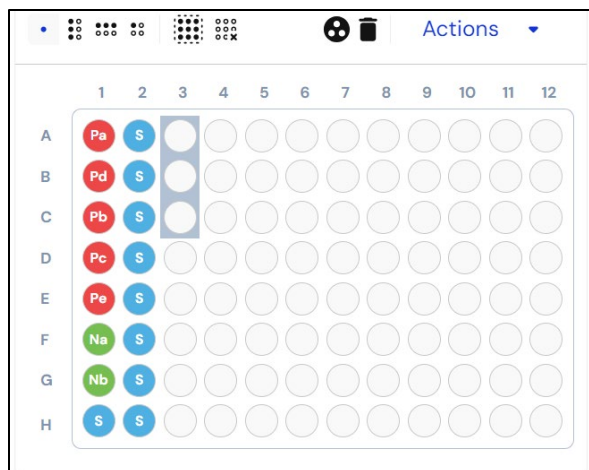
- För **CFX96 Dx** och **CFX96 Touch** > Välj **PlexPCR VHS (CFX)**



- Välj brunnar och tilldela som:
 - > Vanligt Prov (S)
 - > Negativ kontroll (Na)
 - > Ingen mallkontroll (obs)
 - > Positiv kontroll (alla mål) (Pa) – använd detta för Positive Control HSV/VZV/TP (SpeedX, kat. nr 95007)
 - > Positive Control (HSV-1) (Pb)
 - > Positive Control (HSV-2) (Pc)
 - > Positive Control (VZV) (Pd)
 - > Positive Control (T. pallidum) (Pe)

Om du vill tilldela brunnar på plattan gör du något av följande:

- Klicka och dra de färgade symbolerna för att placera dem på plattan
- Markera en eller flera brunnar (använd Ctrl- och Shift-tangenterna) och klicka sedan på de relevanta färgade symbolerna som ska tilldelas markeringen.



- Välj **Analysera**

22.5 Resultat

Se **Tabell 39** för en sammanfattning av möjliga rapporterade provresultat.

OB! Det rekommenderas starkt att amplifieringskurvorna inspekteras visuellt och bekräftas för alla positiva prover.

22.5.1 Fliken Summary (Sammanfattning)

Kontrollresultat för varje analys visas längst upp till vänster på fliken Summary (Sammanfattning), vilket gör det möjligt att utvärdera kontrollvaliditeten för körningen. Du hittar mer information genom att expandera det här blocket och visa informationen per kontroll.

Control Results Filters | ⚙️

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








Om en kontroll är ogiltig kan alla prover markeras som underkända genom att välja **Fail all samples for this assay (Underkänn alla prover för denna analys)**

Fail all samples for this assay





Failure reason ▼










En felorsak måste väljas i den nedrullningsbara menyn

Exempel på resultat visas längst ned till vänster på fliken Sammanfattning. Bredvid rubriken kan ytterligare ikoner ge en översikt över analysresultaten på hög nivå samt ange det totala antalet prover som motsvarar en viss ikon.

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

Varje prov visas som en rad i resultattabellen för urval.

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+ |< < > >|

Rullgardinsmenyn finns mer information om varje målresultat och Cq per prov (Se exemplen som visas i **avsnitt 22.10**).

Enskilda prover kan markeras som underkända om så önskas (t.ex. om provet är ogiltigt) genom att välja **Fail this sample for this assay (Underkänn med detta prov för denna analys)**

Fail this sample for this assay

Failure reason ▼

En felorsak måste väljas i den nedrullningsbara menyn

Fluorescensdiagram kan visas längst upp till höger på fliken Sammanfattning

En plattlayout kan visas längst ned till höger på fliken Summary.

Exempel på information och varningsmeddelanden sammanfattas nedan i **Tabell 38**.

Tabell 38. Exempel på informations- och varningsmeddelanden för analysprogramvaran PlexPCR® VHS*		
Prov.typ	Fel	Meddelande
Meddelanden om analysmål		
Vanligt prov	Ogiltig – IC-fel	Warning: IC invalid. Re-extract and re-test sample.
	Giltig men kontroll är ogiltig – Ogiltig kontrollvarning på vanligt prov med giltigt resultat	Warning: Invalid control present. Re-extract and re-test the sample..
Negativ kontroll	Ogiltig - Förorening	Warning: Possible contamination detected.
Ingen mallkontroll		
Meddelanden om genmål		
Vanligt prov	Mål Cq utanför avskärningsgränsen	Info: Cq outside cutoff
Positiv kontroll	Ogiltig – Mål upptäcktes inte	Warning: Expected reaction did not occur in control.
Negativ kontroll	Ogiltig - Förorening	Warning: Possible contamination
	Ogiltig – IC hittades inte	Warning: IC not detected
	Ogiltig – IC Cq utanför avstängning	Warning: Cq outside cutoff
Ingen mallkontroll	Ogiltig - Förorening	Warning: Possible contamination
Regelbundet prov eller kontroll	Osäker fluorescenssignal	Warning: Uncertain fluorescence signal. Review required.
	Cq detekteras med låg fluorescens	dRn end fluorescence below cut-off

*De exempel som anges här kanske inte är tillämpliga för alla analysplugins. Se FastFinder-användarhandboken för alla möjliga meddelanden, tillgänglig från Support-menyn

22.5.2 Fliken Detaljer

Alla mål visas för varje prov som separata rader i tabellen till vänster. Om du väljer en eller flera rader visas motsvarande fluorescenskurvor i diagrammet uppe till höger och brunnarna i plattlayouten visas markerade längst ned till höger.


Välj **Filter** för att visa resultat enligt parametrar som analysnamn, provtyp, mål och resultat.

För att slutföra analysen och förhindra ytterligare användarredigeringar

- > Välj **Authorize (Bemyndiga)**
- > Välj **Authorize (Bemyndiga)** igen för att bekräfta
- För att tilldela en andra granskning
 - > Välj **Actions, Assign label (Åtgärder, Tilldela etikett)** och **Second Review (Andra granskningen)**
- För att tilldela analysen till en annan användare
 - > Välj **Actions (Åtgärder)** och **Assign User (Tilldela användare)**
 - > Välj lämplig användare från listrutan.
- Att avvisa Analysen
 - > Välj **Actions (Åtgärder)** och **Discard Analysis (Kasta analys)**
 - > Lägg till en kommentar och välj **Discard (Kasta bort)** för att bekräfta

22.6 Referens.kurva

En referens.kurva kan sparas och användas för att jämföra prover på samma eller olika plattor.

- Välj det prov som är av intresse på fliken **Summary (Sammanfattning)** eller **Details (Detaljer)** flik
- Från **Amplification graph** (förstärknings.diagram.menyn) > Välj 
 - > Markera kryssrutan för den kurva du är intresserad av och välj **Mark as reference (Markera som referens)**.

Denna referenskurva kommer nu att visas länkad till analysen i **Lab Configuration > Assays (Laboratorie.konfiguration > analyser)** meny inom ramen för **Fliken PCR** och kan inaktiveras när som helst.

22.7 Exportera resultat

- För att exportera resultat från en enskild auktoriserad körning som antingen en CSV- eller PDF-fil:
 - > Välj **Actions (Åtgärder) > Downloads (Nedladdningar)** i det övre högra hörnet
 - > Välj någon av följande rapporttyper: **Analys (CSV)** eller **Analys (PDF)**
- Så här exporterar du resultat från flera tidigare auktoriserade körningar som en enda CSV-fil:
 - > Navigera till **Archive (Arkiv) > Sample Results (exempel Resultat)** meny
 - > Använd filtren överst på sidan för att visa resultat av intresse (CSV-filen är begränsad till maximalt 10 000 resultat)
 - > Välj **Export (Exportera) CSV** i det övre högra hörnet

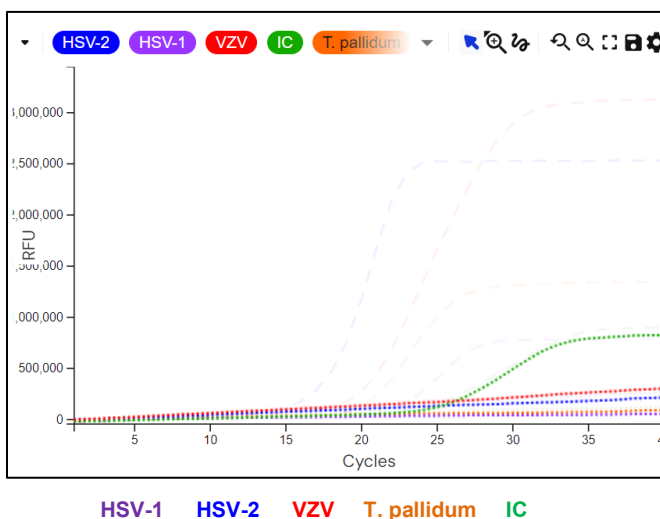
22.8 Hämta auktoriserade analyser

- Alla auktoriserade analyser är tillgängliga genom att välja **Archive > Analysis Results (Arkiv > Analysresultat)**. Välj en rad för att återgå till resultatöversikten för den specifika analysen.
- Alla godkända regelbundna prover lagras inom **Archive > Sample Results (Arkivera > prov.resultat)** meny. Välj ett prov för att visa ytterligare information, inklusive analysnamn och resultatdetaljer.
- De individuella målresultaten för alla auktoriserade reguljära prover och kontroller lagras i menyn **Archive > Target Results (Arkiv > Målresultat)**. Välj ett mål så markeras det i fluorescensdiagrammet. Välj analysnamnet för att återgå till resultatöversikten för den specifika analysen.

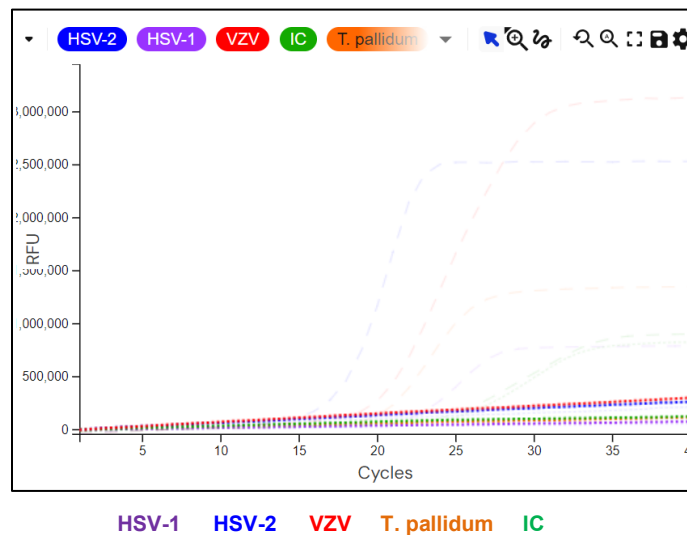
22.9 Kontroll exempel grafer

Följande exempel visar amplifieringskurvorna (baslinjekorrigerade amplifieringskurvor) och resultatöversikten från analysprogramvaran **PlexPCR VHS (7500)** för kontrollprovstyper.

22.9.1 Negativ kontroll (Na)

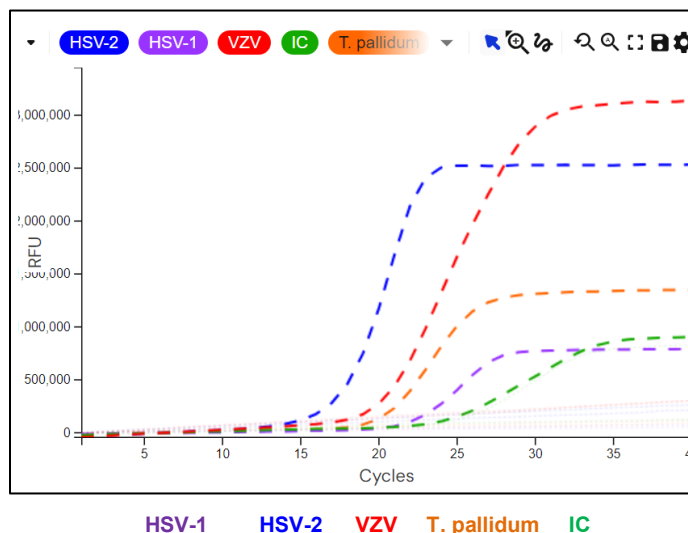


Prov	Analys	Resultat
Na	PlexPCR VHS (7500)	Valid
	HSV-2	⊖ Not detected
	HSV-1	⊖ Not detected
	VZV	⊖ Not detected
	T. pallidum	⊖ Not detected

22.9.2 Ingen mallkontroll (obs)

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

22.9.3 Positiv kontroll (alla mål) (Pa)



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

22.10 Exempel

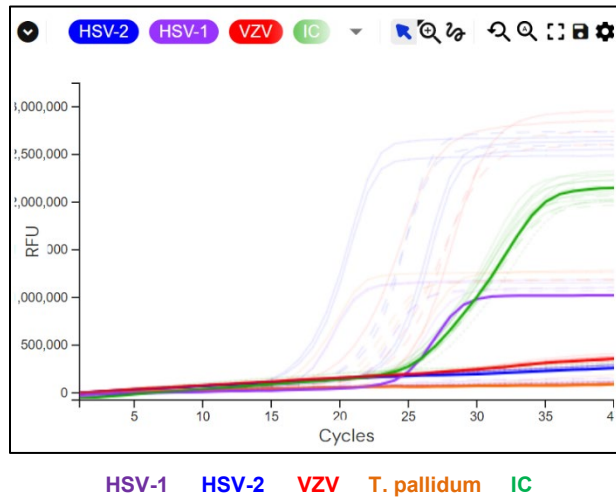
Exempel resultat för **PlexPCR**[®] VHS-analysmjukvara visas i **Tabell 39**.

Tabell 39. Exempelresultat för tolkning av PlexPCR [®] Programvara för VHS-analys			
	Prov	Analys	Resultat
	Prov 101	PlexPCR VHS (7500)	Not detected
	Prov 102	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-2
	Prov 103	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-1
	Prov 104	PlexPCR VHS (7500)	Detected: VZV
	Prov 105	PlexPCR VHS (7500)	Detected: T. pallidum
¹	Prov 106	PlexPCR VHS (7500)	Invalid: HSV-2, HSV-1, VZV, T. pallidum

¹ Ett exempel som tolkas som ogiltigt kommer att flaggas med 

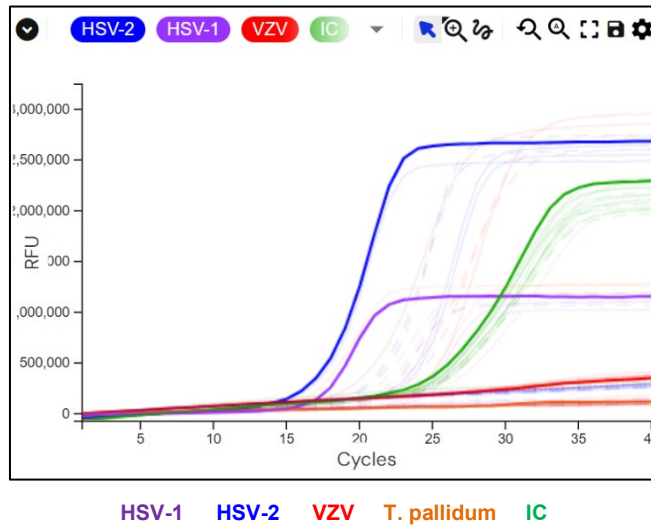
Följande exempelresultat visar linjära baslinjekorrigerade förstärkningskurvor och resultatöversikten från **PlexPCR**[®] VHS (7500) insticksprogram för analys.

22.10.1 Exempel 1. Positivt prov – ett enda mål har identifierats



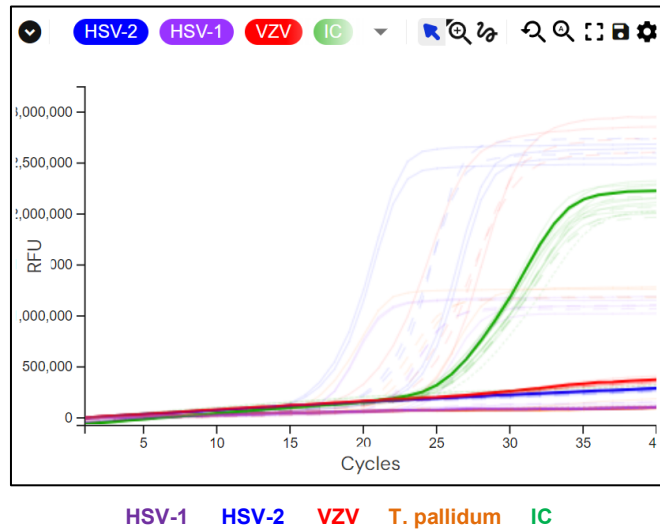
Prov	Analys	Resultat								
Prov 107	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-1								
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>Assay results</p> <table border="1"> <tr> <td>HSV-2</td> <td>⊖ Not detected</td> </tr> <tr> <td>HSV-1</td> <td>⊕ Detected</td> </tr>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

22.10.2 Exempel 2. Positivt prov – flera mål har identifierats

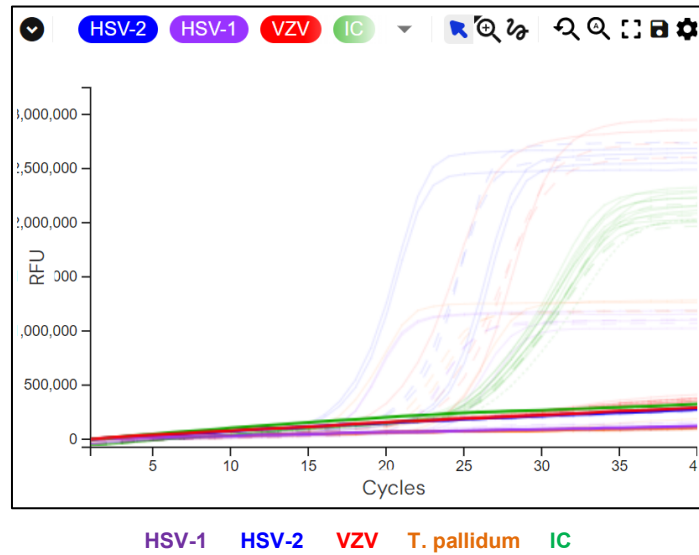


Prov	Analys	Resultat																												
Prov 108	PlexPCR VHS (7500)	Detected: HSV-2, HSV-1																												
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>Assay results</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td>HSV-2</td> <td>⊕ Detected</td> </tr> <tr> <td>HSV-1</td> <td>⊕ Detected</td> </tr> <tr> <td>VZV</td> <td>⊖ Not detected</td> </tr> <tr> <td>T. pallidum</td> <td>⊖ Not detected</td> </tr> </tbody> </table> </div> <div style="width: 50%;"> <table border="1"> <tbody> <tr> <td>HSV-2</td> <td>B3</td> <td>• Detected</td> <td>17.277</td> </tr> <tr> <td>HSV-1</td> <td>B3</td> <td>• Detected</td> <td>16.924</td> </tr> <tr> <td>VZV</td> <td>B3</td> <td>• Not detected</td> <td></td> </tr> <tr> <td>IC</td> <td>B3</td> <td>• Detected</td> <td>25.742</td> </tr> <tr> <td>T. pallidum</td> <td>B3</td> <td>• Not detected</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> </div> </div>			HSV-2	⊕ Detected	HSV-1	⊕ Detected	VZV	⊖ Not detected	T. pallidum	⊖ Not detected	HSV-2	B3	• Detected	17.277	HSV-1	B3	• Detected	16.924	VZV	B3	• Not detected		IC	B3	• Detected	25.742	T. pallidum	B3	• Not detected	
HSV-2	⊕ Detected																													
HSV-1	⊕ Detected																													
VZV	⊖ Not detected																													
T. pallidum	⊖ Not detected																													
HSV-2	B3	• Detected	17.277																											
HSV-1	B3	• Detected	16.924																											
VZV	B3	• Not detected																												
IC	B3	• Detected	25.742																											
T. pallidum	B3	• Not detected																												

22.10.3 Exempel 3. Negativt prov



Prov	Analys	Resultat								
Prov 109	PlexPCR VHS (7500)	Not detected								
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>Assay results</p> <table border="1"> <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: 45%;"> <p>HSV-2</p> <p>↳ C2 ● Not detected</p> <hr/> <p>HSV-1</p> <p>↳ C2 ● Not detected</p> <hr/> <p>VZV</p> <p>↳ C2 ● Not detected</p> <hr/> <p>IC</p> <p>↳ C2 ● Detected 25.869</p> <hr/> <p>T. pallidum</p> <p>↳ C2 ● Not detected</p> </div> </div>			HSV-2	⊖ Not detected	HSV-1	⊖ Not detected	VZV	⊖ Not detected	T. pallidum	⊖ Not detected
HSV-2	⊖ Not detected									
HSV-1	⊖ Not detected									
VZV	⊖ Not detected									
T. pallidum	⊖ Not detected									

22.10.4 Exempel 4. Ogiltigt prov

Prov	Analys	Resultat
Prov 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 ▼

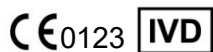
IC

↳ G2 ● Not detected ▼

T. pallidum

↳ G2 ● Not detected ▼

23 Ordlista



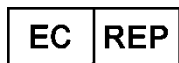
Europeisk överensstämmelse
För *In Vitro*-diagnostisk användning



Katalognummer



Batchkod



Auktoriserad representant
I Europeiska gemenskapen



Tillverkare



Tillverkningsdatum



Temperaturbegränsning



Innehåller tillräckligt för
xxx bestämningar



Utgångsdatum



Europeisk importör



Bedömningsmärke för
överensstämmelse i Storbritannien

SpeedX-produkter kan täckas av en eller flera lokala eller främmande patent. Se www.plexpcr.com/patents för uttömmande information om patent.

PlexPCR[®], **ResistancePlus**[®], **PlexPrime**[®] och **PlexZyme**[®] är varumärken som tillhör SpeedX. Andra copyright och varumärken är respektive ägares egendom.

© Copyright 2026 SpeedX Pty. Ltd.