

Brugsanvisning

AltoStar[®] *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5

10/2021 DA

AltoStar[®]

alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5

Til brug med

CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)

CFX96™ Dx System (Bio-Rad)

ABI Prism[®] 7500 SDS (Applied Biosystems)

QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)

Rotor-Gene[®] Q5/6 plex Platform (QIAGEN)



AS0081543



96



10 2021



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22767 Hamburg

Indholdsfortegnelse

1.	Om denne brugsanvisning	8
2.	Tilsigtet brug	9
3.	Kittets indhold	10
4.	Opbevaring og håndtering	11
4.1	Opbevaring	11
4.2	Håndtering	12
4.2.1	Master A og Master B	12
4.2.2	Positive Control og No Template Control.....	13
5.	Produktbeskrivelse	13
5.1	Baggrund	14
5.2	Komponentbeskrivelse	15
5.2.1	Master A og Master B	15
5.2.2	Positive Control	15
5.2.3	No Template Control	16
5.3	Arbejdsgange	16
5.3.1	AltoStar® Workflow	16
5.3.2	Andre arbejdsgange	17
5.3.2.1	Ekstraktion af nukleinsyre	17
5.3.2.2	Real-time-PCR-instrumenter	17
5.4	Prøver	18
5.4.1	Prøvetyper	18
5.4.2	Samling af prøver og håndtering	18
6.	Advarsler, forholdsregler og begrænsninger	20
7.	Brug af AltoStar® <i>alpha</i> Herpesvirus PCR Kit 1.5 med AltoStar® Workflow	22

7.1	Prøvevolumen	22
7.2	Prøverør	22
7.3	Stregkoder på prøver.....	22
7.4	Materiale og udstyr, der kræves, men ikke leveres til AltoStar® Workflow	23
7.5	Generelt materiale og udstyr	24
7.6	Procedure	25
7.6.1	Oversigt over AltoStar® Workflow	25
7.6.2	Programmering af en AltoStar® kørsel.....	29
7.6.3	Start af en PCR-opsætningskørsel.....	29
7.6.3.1	Forberedelse af reagenser til en PCR-opsætningskørsel	30
7.6.3.2	Loading af AltoStar® AM16 til en PCR-opsætningskørsel	31
7.6.3.3	Under PCR-opsætningskørslen	34
7.6.4	Afslutning af PCR-opsætningskørsel.....	34
7.6.4.1	Resultater af PCR-opsætningskørsel.....	35
7.6.5	Forsegling af PCR-pladen	37
7.6.5.1	PCR-blandingens stabilitet.....	38
7.6.6	Start af en PCR-kørsel	39
7.6.6.1	Under PCR-kørslen	40
7.6.6.2	Tildeling af analyser til brøndgrupper	40
7.6.7	PCR-dataanalyse	43
7.6.7.1	Baseline-korrektion.....	44
7.6.7.2	Udelukkelse af uregelmæssige PCR-signaler.....	46
7.6.7.3	Indstilling af tærskelværdier	50
7.6.8	Validitet af PCR-resultater	54
7.6.8.1	Udelukkelse af brønde, der indeholder ugyldige data	54
7.6.8.2	Validitet af en diagnostisk PCR-kørsel	57
7.6.8.3	Validitet af resultaterne for en prøve	57
7.6.9	Eksport af PCR-resultater for automatiseret fortolkning af resultat	58

7.6.10	Eksport af PCR-resultater til manuel fortolkning af resultater.....	59
7.6.10.1	Manuel fortolkning af resultater.....	60
8.	Brug af AltoStar® <i>alpha</i> Herpesvirus PCR Kit 1.5 med andre real-time-PCR-instrumenter end CFX96™ Deep Well Dx System	62
8.1	Materialer og udstyr påkrævet, men medfølger ikke	62
8.2	Procedure.....	63
8.2.1	Forberedelse af prøve	63
8.2.2	Opsætning af master-blanding	63
8.2.3	Reaktionsopsætning.....	64
8.2.4	PCR-kørsel.....	66
8.2.4.1	Programmering af real-time-PCR-instrumentet.....	66
8.2.4.2	Kørselsindstillinger	66
8.2.5	Dataanalyse.....	67
9.	Ydelsesdata	68
9.1	Kutane og mucokutane svaberprøver	68
9.1.1	Analytisk følsomhed	68
9.1.2	Analytisk specificitet	70
9.1.2.1	Negative prøver.....	71
9.1.2.2	Interfererende stoffer.....	71
9.1.2.3	Krydsreaktivitet.....	72
9.1.3	Præcision.....	73
9.1.4	Samlet fejlrate.....	76
9.1.5	Overførsel.....	76
9.1.6	Klinisk ydelse.....	76
10.	Bortskaffelse	78
11.	Kvalitetskontrol	79
12.	Teknisk support.....	79

13.	Litteratur	80
14.	Varemærker og ansvarsfraskrivelser	80
15.	Symboler	81
16.	Analyseprotokol for AltoStar® Connect-softwaren og oplysninger om LIMS-integration	83
17.	Revisionshistorik	85

1. Om denne brugsanvisning

Denne brugsanvisning vejleder brugeren i brugen af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5. Kapitel 1-6 og 9-14 indeholder generelle oplysninger og instruktioner, som gælder for hver arbejdsgang, der anvendes med AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5. Kapitel 7 indeholder instruktioner om, hvordan produktet anvendes sammen med AltoStar® Automation System AM16 (Hamilton; i det følgende sammenfattet som AltoStar® AM16) med AltoStar® Connect-softwaren (version 1.7.4 eller højere, Hamilton) til automatiseret PCR-opsætning og på CFX96™ Deep Well Dx System* (Bio-Rad; i det følgende sammenfattet som CFX96™ DW Dx) med CFX Manager™ Dx-softwaren (version 3.1, Bio-Rad) til real-time-PCR. Kapitel 8 indeholder instruktioner om, hvordan AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 kan bruges sammen med andre nukleinsyreekstraktionsmetoder og real-time-PCR-instrumenter. For nærmere oplysninger om brugen af AltoStar® AM16, AltoStar® Connect-softwaren, AltoStar® Purification Kit 1.5, AltoStar® Internal Control 1.5 og CFX96™ DW Dx henvises der til de respektive brugsanvisninger, der er anført nedenfor:

- AltoStar® Automation System AM16 brugermanual IVD (Hamilton)
- AltoStar® Connect softwaremanual IVD (Hamilton)
- Brugsanvisning AltoStar® Purification Kit 1.5
- Brugsanvisning AltoStar® Internal Control 1.5
- Driftsvejledning CFX96™ Dx og CFX96™ Deep Well Dx systemer (Bio-Rad)

* "CFX96™ Deep Well Dx System" er det nye varemærke for IVD-versionen af CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad).

I hele denne manual har udtrykkene ADVARSEL og BEMÆRK følgende betydning:

ADVARSEL



Fremhæver brugsanvisninger eller procedurer, som, hvis de ikke følges korrekt, kan medføre personskade eller påvirke produktets ydeevne. Kontakt altona Diagnostics' tekniske support for at få hjælp.

BEMÆRK



Brugeren får oplysninger, som er nyttige, men som ikke er afgørende for den aktuelle opgave.

Læs brugsanvisningen omhyggeligt, før du bruger produktet.

2. Tilsigtet brug

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 er en *in vitro*-diagnostisk test baseret på real-time-PCR-teknologi til kvalitativ påvisning og differentiering af herpes simplex virus 1 (HSV-1), herpes simplex virus 2 (HSV-2) og varicella-zoster-virus (VZV) specifikt DNA i human-kutane og mucokutane svaberprøver. Den er beregnet til at blive brugt som hjælpemiddel til diagnosticering af HSV-1, HSV-2 og VZV infektion.

Resultaterne fra AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 skal fortolkes i sammenhæng med andre kliniske og laboratoriemæssige resultater.

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 er beregnet til at blive brugt af professionelle, der er uddannet i molekylærbiologiske teknikker og *in vitro*-diagnostiske procedurer.

3. Kittets indhold

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 indeholder følgende komponenter:

Tabel 1: Kit-komponenter

Lågets farve	Komponent	Antal rør	Nettomængde [µl/rør]
Blå	Master A ¹⁾	8	60 ²⁾
Lilla	Master B ¹⁾	8	180 ³⁾
Rød	PC ⁴⁾	2	250
Hvid	NTC ⁵⁾	2	250

¹⁾ Indeholder materiale af animalsk oprindelse

²⁾ Indeholder et ekstra volumen på 25 µl for at kompensere for det døde volumen i AltoStar® AM16's væskehåndtering

³⁾ Indeholder et ekstra volumen på 55 µl for at kompensere for det døde volumen i AltoStar® AM16's væskehåndtering

⁴⁾ Positive Control indeholder HSV-1, HSV-2 og VZV-specifik DNA

⁵⁾ No Template Control (negativ kontrol)

ADVARSEL



Før første brug skal du kontrollere, at produktet og dets komponenter er fuldstændige med hensyn til antal, type og fyldning. Brug ikke et defekt eller ufuldstændigt produkt, da produktets ydeevne kan blive forringet.

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 indeholder nok reagenser til at udføre 96 reaktioner i et maksimalt antal på 8 kørsler.

Produktet fragtes på tøris. Ved modtagelsen og før første brug skal du kontrollere produktet og dets komponenter for:

- Integritet
- Fuldstændighed med hensyn til antal, type og fyldning
- Korrekt mærkning
- Udløbsdato
- Frossen tilstand
- Klarhed og fravær af partikler

Hvis en eller flere produktkomponenter ikke er frossen ved modtagelsen, hvis rørene er blevet kompromitteret under forsendelsen eller mangler, skal du kontakte Altona Diagnostics' tekniske support for at få hjælp (se kapitel 12. Teknisk support).

4. Opbevaring og håndtering

Alle reagenser inkluderet i AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 er klar-til-brug løsninger.

4.1 Opbevaring

Alle AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5-komponenter skal opbevares ved -25 °C til -15 °C ved ankomsten.

ADVARSEL



Uhensigtsmæssige opbevaringsforhold kan skade produktets ydeevne.

ADVARSEL



Produkterne må ikke anvendes efter udløbsdatoen. Brug af udløbne produkter kan skade produktets ydeevne.

4.2 Håndtering

ADVARSEL



Overskrid ikke den optønings- og fryserækkefølge samt den håndteringsvarighed, der er angivet i denne brugsanvisning, da dette kan forringe produktets ydeevne.

ADVARSEL



Ukorrekt håndtering af produktkomponenter og prøver kan forårsage kontaminering og kan skade produktets ydeevne:

- Udskift ikke hætteglas eller flaskehætter.
- Opbevar positivt og/eller potentielt positivt materiale adskilt fra kit-komponenterne.
- Brug adskilte arbejdsområder til prøveforberedelse/reaktionsopsætning og amplifikation/detektion.
- Bortskaf altid handsker efter håndtering af positivt og/eller potentielt positivt materiale.
- PCR-pladerne og/eller -rørene må ikke åbnes efter amplifikation.

ADVARSEL



Dele fra forskellige kit-partier må ikke blandes sammen. Brug af forskellige kit-partier kan skade produktets ydeevne.

4.2.1 Master A og Master B

Efter optøning er Master A og Master B stabile i 5 timer ved op til +30 °C.

BEMÆRK



Hvis Master A og Master B blev optøet, men ikke brugt, kan de genfryses og optøes igen én gang til senere kørsler. Hvis de er åbnet, skal du kassere lågene og bruge nye låg for at undgå forurening af reagenserne.

4.2.2 Positive Control og No Template Control

1. Efter optøning er Positive Control (PC) og No Template Control (NTC) stabile i 5 timer ved op til +30 °C.
2. Kassér lågene fra PC- og NTC-rørene ved efter brug, og brug nye låg for at undgå forurening af reagenserne.
3. Efter brug lukkes PC- og NTC-rørene med nye låg, og de fryses straks ned.
4. Følgende optønings- og fryserækkefølge må ikke overskrides for hvert PC- og NTC-rør: *Tø 1* → *Frys 1* → *Tø 2* → *Frys 2* → *Tø 3* → *Frys 3* → *Tø 4*

5. Produktbeskrivelse

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 er en *in vitro*-diagnostisk test til kvalitativ påvisning og differentiering af HSV-1, HSV-2 og VZV specifik DNA i human-kutane og mucokutane svaberprøver.

Den er baseret på real-time-PCR-teknologi, der anvender polymerasekædereaktion (PCR) til amplifikation af HSV-1, HSV-2 og VZV specifikke målsekvenser og fluorescerende mærkede målspecifikke prober til påvisning af det amplificerede DNA.

Ud over det HSV-1, HSV-2 og VZV DNA specifikke amplifikations- og detektionssystem omfatter analysen oligonukleotider til amplifikation og detektion af den interne kontrol (i det følgende forkortet IC; AltoStar® Internal Control 1.5).

Prober, der er specifikke for HSV-1 DNA, er mærket med fluorofor ROX™, prober, der er specifikke for HSV-2 DNA, er mærket med fluorofor Cy5 og prober, der er specifikke for VZV DNA, er mærket med fluorofor FAM™. Proben, der er specifik for IC'en, er mærket med en fluorofor (JOE™), der kan detekteres i f.eks. VIC™ kanalen.

Ved at anvende prober, der er knyttet til forskellige farvestoffer, kan der foretages parallel detektion af HSV-1, HSV-2 og VZV specifikke DNA og IC'en i tilsvarende detektionskanaler i det anvendte real-time-PCR-instrument.

5.1 Baggrund

Herpesviridae (synonym: Herpesvira) er en stor familie af DNA-vira, der forårsager sygdomme hos dyr, herunder mennesker [1,2]. Alle *herpesviridae* er sammensat af relativt store dobbeltstrengede, lineære DNA-genomer [1,2]. I henhold til forskelle i patogenicitet, værtsområde og replikationsegenskaber er *herpesviridae* underopdelt i tre grupper: *alpha*-, *beta*- og *gammaherpesviridae* [1,2]. *Alphaherpesviridae* (*alpha*-herpesvira) er kendetegnet ved korte reproduktionscyklusser, hurtig ødelæggelse af værtscellerne og evnen til at replikere i en lang række værtsvæv [1,2]. En vigtig egenskab ved disse vira er deres evne til at etablere livslang latent infektion i værternes perifere nervesystem [1,2]. Den humanpatogene *herpes simplex-virus 1* (HSV-1), *herpes simplex-virus 2* (HSV-2) og *varicella-zoster-virus* (VZV) tilhører *alpha*-herpesviraene [1,2].

Herpes simplex-virus 1 (HSV-1) og herpes simplex-virus 2 (HSV-2) infektioner forekommer i hele verden uden sæsonbestemt fordeling [3,4]. Virusset overføres ved kontakt med væsker, sår eller hud/overflader fra en inficeret person [4]. Selv om HSV-infektioner normalt er asymptomatiske, kan de forårsage et bredt spektrum af kliniske manifestationer. Primære HSV-1-infektioner kan hovedsagelig forårsage oral herpes, men kan også vise sig som genital herpes. Primære infektioner med HSV-2 forårsager klassisk genital herpes [4]. Symptomer på herpes omfatter smertefulde blærer eller sår på infektionsstedet [4]. Primær infektion med HSV-1 eller HSV-2 efterfølges af en latensperiode i sensoriske ganglier [5,6]. Med jævne mellemrum reaktiveres virusset og bevæger sig via nerveaxonet til mund- eller kønsorganer, hvilket resulterer i infektion af epitelcellerne og i nogle tilfælde i tilbagevendende blærer eller sår [4,5]. I sjældne tilfælde kan HSV-infektion føre til mere alvorlige kliniske manifestationer som f.eks. hjernebetændelse, keratitis (øjenbetændelse) og neonatal herpes [2,4].

VZV spredes ved dråbeinhalation eller ved direkte kontakt med infektiøse læsioner [1,2]. Mere end 90 % af alle voksne har antistoffer mod VZV [1,2]. Virusset forårsager to forskellige kliniske manifestationer: varicella (skoldkopper) og zoster (helvedesild) [1,2]. Varicella er den primære infektion med VZV og er meget smitsom [1,2]. Varicella forekommer oftest hos børn [1,2]. I modsætning til primære infektioner med de andre *Herpesviridae* er varicella normalt klinisk tydelig og karakteriseret ved et generaliseret vesikulært eksantem, der ofte ledsages af feber [1,2]. Zoster (helvedesild) er en sekundær infektion som følge af reaktivering af latent VZV i de sensoriske ganglier [1,2]. Zoster forekommer normalt hos voksne eller immunsvækkede patienter og er karakteriseret ved smerter og et vesikulært udbrud i et eller flere dermatomer med ledsagende betændelse i de tilknyttede dorsalrods- eller kranienervesensoriske ganglier [1,2,7].

Real-time-PCR er en pålidelig metode til påvisning og differentiering af *alpha*-herpesvirusser og er derfor afgørende for at forhindre yderligere overførsel af virus og spredning af tilknyttede sygdomme.

5.2 Komponentbeskrivelse

5.2.1 Master A og Master B

Master A og Master B indeholder alle komponenter (PCR-buffer, DNA-polymerase, magnesiumsalt, primere og prober) til PCR-medieret amplifikation, måldetektion og differentiering af HSV-1, HSV-2 og VZV specifik DNA og af IC'en i én reaktionsopsætning.

5.2.2 Positive Control

PC'en indeholder standardiserede koncentrationer af HSV-1, HSV-2 og VZV specifik DNA. PC'en bruges til at kontrollere funktionaliteten af de HSV-1, HSV-2 og VZV specifikke forstærknings- og detektionssystemer, der indgår i AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5.

5.2.3 No Template Control

NTC'en indeholder hverken HSV-1, HSV-2 eller VZV specifik DNA, men indeholder IC-skabelonen. NTC'en anvendes som negativ kontrol for den HSV-1, HSV-2 og VZV DNA specifikke real-time-PCR og angiver eventuel kontaminering af Master A og Master B.

5.3 Arbejdsgange

5.3.1 AltoStar® Workflow

AltoStar® Workflow omfatter følgende IVD-produkter:

- AltoStar® Automation System AM16 (Hamilton)
- AltoStar® Connect software version 1.7.4 eller højere (Hamilton)
- CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad) med CFX Manager™ Dx software version 3.1 (Bio-Rad)

Arbejdsgangen inkluderer de følgende trin:

1. Programmering af en AltoStar® kørsel.
2. Oprensingskørsel på AltoStar® AM16 med brug af AltoStar® Purification Kit 1.5 og AltoStar® Internal Control 1.5.
3. PCR-opsætningskørsel udført på AltoStar® AM16 ved hjælp af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5.
4. Real-time-PCR-kørsel på en CFX96™ DW Dx.

For yderligere oplysninger om trin 3 og 4 i arbejdsgangen henvises til kapitel 7. Brug af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 med AltoStar® Workflow. Alle prøvetyper og prøvevolumener, der er specificeret til brug med AltoStar® Purification Kit 1.5, kan behandles samtidigt på AltoStar® AM16. Hver prøve kan analyseres med så mange real-time-PCR-analyser i parallelt forløb, som det tilgængelige eluat tillader.

BEMÆRK



Analyser med forskellige PCR-temperaturprofiler sorteres automatisk til separate PCR-plader.

5.3.2 Andre arbejdsgange

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 kan bruges med kompatible arbejdsgange (manuel eller automatiseret). Real-time-PCR-instrumenter, der er blevet valideret til brug med AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5, er anført i kapitel 5.3.2.2 Real-time-PCR-instrumenter. Brugen af alternative ekstraktionsprocedurer skal valideres af brugeren.

5.3.2.1 Ekstraktion af nukleinsyre

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 kan bruges med andre nukleinsyreekstraktionssystemer end AltoStar® AM16. Alternative procedurer, der anvendes til nukleinsyreekstraktion, skal valideres af brugeren. Se kapitel 8.2.1 Forberedelse af prøve for instruktioner vedrørende brug af AltoStar® Internal Control 1.5 i kombination med andre ekstraktionsmetoder end AltoStar® Purification Kit 1.5.

5.3.2.2 Real-time-PCR-instrumenter

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 er blevet udviklet og valideret med følgende real-time-PCR-instrumenter:

- CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)

Ved brug af et af de ovenfor anførte real-time-PCR-instrumenter (undtagen CFX96™ Deep Well Dx System) skal PCR-opsætningen, programmeringen af instrumentet og dataanalysen udføres manuelt (se kapitel 8.2.2 Opsætning af master-blanding til 8.2.5 Dataanalyse).

5.4 Prøver

5.4.1 Prøvetyper

Følgende prøvetyper er valideret til brug med AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5:

- Prøver fra humane kutane svaberprøver, der er indsamlet i universelt transportmedium
- Prøver fra humane mucokutane svaberprøver indsamlet i universelt transportmedium

ADVARSEL



Brug ikke andre prøvetyper! Brug af andre prøvetyper kan skade produktets ydeevne.

5.4.2 Samling af prøver og håndtering

Til prøveudtagning skal der anvendes kommercielt tilgængelige vatpinde med dacronfiber- eller polyester-spidsen med plastikskæft. Tørre vatpinde skal resuspenderes i et universelt transportmedium (f.eks. UTM® fra Copan). Der må ikke anvendes kalciumalginatsvaberprøver, svaberprøver med træskæft og/eller bomuldsspidsen samt svaberprøver, der er opsamlet i agargel. Transporten skal ske i overensstemmelse med de lokale og nationale anvisninger for transport af biologisk materiale.

Før brug bør human-kutane og mucokutane svaberprøver resuspenderes i UTM® ikke opbevares i mere end 48 timer ved stuetemperatur (+20 °C til +25 °C), 5 dage ved +2 °C til +8 °C eller 2 måneder ved -25 °C til -15 °C.

ADVARSEL



Behandl altid prøver som smittefarligt og (bio-)farligt materiale i overensstemmelse med sikkerheds- og laboratorieprocedurer. Ved spild af prøvemateriale skal der straks anvendes et egnet desinfektionsmiddel. Håndter kontaminerede materialer som biofarlige.

BEMÆRK



Frossen opbevaring af prøverne forringer ikke kittets ydeevne. Når der arbejdes med frosne prøver, skal prøverne være helt optøede og blandet korrekt før brug.

BEMÆRK



Prøverne skal være fri for faste stoffer og bestanddele med høj viskositet. Faste stoffer og bestanddele med høj viskositet vil forstyrre prøveoverførslen på AltoStar® AM16, og prøverne vil ikke blive behandlet.

BEMÆRK



Anvendelse af calciumalginat-svaberprøver kan føre til ukorrekte eller ugyldige resultater på grund af PCR-hæmning.

BEMÆRK



Brug af svaberprøver med træskaft og/eller bomuldsspidser eller svaberprøver med agargel som transportmedium kan forstyrre prøveoverførslen på AltoStar® AM16 på grund af rester af træ, bomuld og/eller agar, og prøverne vil ikke blive behandlet.

6. Advarsler, forholdsregler og begrænsninger

- Før første brug skal du kontrollere, at produktet og dets komponenter er fuldstændige med hensyn til antal, type og fyldning. Brug ikke et defekt eller ufuldstændigt produkt, da produktets ydeevne kan blive forringet.
- U hensigtsmæssige opbevaringsforhold kan skade produktets ydeevne.
- Produkterne må ikke anvendes efter udløbsdatoen. Brug af udløbne produkter kan skade produktets ydeevne.
- Overskrid ikke den optønings- og fryserækkefølge samt den håndteringsvarighed, der er angivet i denne brugsanvisning, da dette kan forringe produktets ydeevne.
- Ukorrekt håndtering af produktkomponenter og prøver kan forårsage kontaminering og kan skade produktets ydeevne:
 - Udskift ikke hætteglas eller flaskehætter.
 - Opbevar positivt og/eller potentielt positivt materiale adskilt fra kit-komponenterne.
 - Brug adskilte arbejdsområder til prøveforberedelse/reaktionsopsætning og amplifikation/detektion.
 - Bortskaf altid handsker efter håndtering af positivt og/eller potentielt positivt materiale.
 - PCR-pladerne og/eller -rørene må ikke åbnes efter amplifikation.
- Dele fra forskellige kit-partier må ikke blandes sammen. Brug af forskellige kit-partier kan skade produktets ydeevne.
- Brug ikke andre prøvetyper! Brug af andre prøvetyper kan skade produktets ydeevne.
- Behandl altid prøver som smittefarligt og (bio-)farligt materiale i overensstemmelse med sikkerheds- og laboratorieprocedurer. Ved spild af prøvemateriale skal der straks anvendes et egnet desinfektionsmiddel. Håndter kontaminerede materialer som biofarlige.
- Opbevaring af eluater under forkerte betingelser kan føre til nedbrydning af HSV-1-, HSV-2- og/eller VZV-målekvenserne og kan forringe produktets ydeevne.
- Brug ikke en anden version af analyseprotokollen end den, der er angivet på 2D-stregkoden i denne brugsanvisning. Brug af en ukorrekt version af en analyseprotokol kan forringe produktets ydeevne.

- Manglende centrifugering af produktkomponenterne efter optøning kan forårsage kontaminering med reagensrester i lågene og kan forringe produktets ydeevne.
- Genbrug ikke rørhætter, da dette kan forårsage kontaminering af reagenserne og forringe produktets ydeevne.
- Som ved enhver diagnostisk test skal resultaterne fortolkes under hensyntagen til alle kliniske og laboratoriemæssige resultater.
- Tilstedeværelsen af PCR-hæmmere kan forårsage falsk negative eller ugyldige resultater.
- Brug ikke andre mængder Master A og Master B til master-blanding-opsætning end dem, der er angivet i denne brugsanvisning, da dette kan forringe produktets ydeevne.
- Overskrid ikke opbevaringstiden for PCR-blandingen, da dette kan forringe produktets ydeevne.
- Bland ikke prøver eller prøve-ID'er under PCR-opsætning eller overførsel til PCR-instrumentet. Dette kan føre til falsk positive eller falsk negative resultater på grund af forkert tildeling af prøverne.
- Brug ikke andre cyklusbetingelser end dem, der er angivet i denne brugsanvisning, da dette kan forringe produktets ydeevne.
- Brug ikke andre kontrolindstillinger til dataanalyse end dem, der er angivet i denne brugsanvisning, da dette kan medføre ukorrekte resultater af IVD-undersøgelser.
- Hvis prøven indeholder andre patogener end HSV-1, HSV-2 og/eller VZV, kan der opstå konkurrence med målamplifikationen eller krydsreaktivitet, hvilket kan medføre ukorrekte IVD-undersøgelsesresultater.
- Bortskaffelse af farligt og biologisk affald skal være i overensstemmelse med lokale og nationale bestemmelser for at undgå miljøforurening.
- Mulige mutationer i de målregioner af HSV-1, HSV-2 og eller VZV genomet, der er dækket af de primære og/eller prober, der anvendes i sættet, kan medføre, at patogenet ikke kan påvises.

7. Brug af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 med AltoStar® Workflow

Den følgende del af denne brugsanvisning beskriver brugen af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 i forbindelse med AltoStar® Workflow. AltoStar® Workflow består af forskellige IVD-produkter (AltoStar® AM16, AltoStar® Connect-softwaren, AltoStar® Purification Kit 1.5, AltoStar® Internal Control 1.5 og CFX96™ DW Dx). Anvendelsen af disse produkter er beskrevet i detaljer i de respektive brugsanvisninger.

- AltoStar® Automation System AM16 brugermanual IVD (Hamilton)
- AltoStar® Connect softwaremanual IVD (Hamilton)
- Brugsanvisning AltoStar® Purification Kit 1.5
- Brugsanvisning AltoStar® Internal Control 1.5
- Driftsvejledning CFX96™ Dx og CFX96™ Deep Well Dx systemer (Bio-Rad)

7.1 Prøvevolumen

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 er valideret til nukleinsyreoprensning fra en prøvevolumen på 500 µl, når AltoStar® AM16 anvendes. Der skal tilvejebringes ekstra prøvevolumen for at tage højde for det døde volumen i det anvendte prøverør (se kapitel 7.2 Prøverør).

7.2 Prøverør

Prøverør, der er egnede til brug på AltoStar® AM16, kan købes hos Altona Diagnostics (7 ml rør med hætte, 82 x 13 mm, VK000010). Andre prøverør kan testes for anvendelighed af brugeren. For yderligere oplysninger henvises der til brugsanvisningen til AltoStar® Purification Kit 1.5.

7.3 Stregkoder på prøver

For automatiseret prøveidentifikation med AltoStar® AM16 skal alle prøverør mærkes med en passende stregkode. For yderligere oplysninger henvises der til brugsanvisningen til AltoStar® Purification Kit 1.5.

7.4 Materiale og udstyr, der kræves, men ikke leveres til AltoStar® Workflow

Materialet og udstyr vist i tabel 2 skal bestilles hos altona Diagnostics.

Tabel 2: Nødvendigt materiale og udstyr

Materiale	Betegnelse	Ordrenr.
AltoStar® Molecular Diagnostic Workflow	Produktpakke indeholdende AltoStar® Automation System AM16, AltoStar® Connect-softwaren (version 1.7.4 eller højere) og IT-hardware	AM16
AltoStar® Detection	Produktpakke med CFX96™ Deep Well Dx System med CFX Manager™ Dx Software (version 3.1), en strekkodescanner og IT-hardware	DT16
AltoStar® Purification Kit 1.5	Kemi til isolering og ekstraktion af nukleinsyre til brug med AltoStar® Automation System AM16	PK15-16/ PK15-46
AltoStar® Internal Control 1.5	Ekstraktion af nukleinsyre og PCR-amplifikation og detektionskontrol	IC15-16/ IC15-46
PCR Plate	Semi-skirted, strekkodet 96 multibrøndplade med hvide brønde	VK000005
PCR Plate Sealing Foil	Forseglingsfolie til PCR-plade	VK000006
1,000 µl CO-RE Tips	1.000 µl filterspidser til brug med AltoStar® Automation System AM16	VK000007
300 µl CO-RE Tips	300 µl filterspidser til brug med AltoStar® Automation System AM16	VK000008
Pooling Tube	Strekkodet rør til pooling af PCR-reagenser	VK000002
Waste Bag	Autoklaverbar steril pose til brug med AltoStar® Automation System AM16	VK000009
Screw Cap - red	Skruenhætte til PC-rør (rød)	VK000012
Screw Cap - blue	Skruenhætte til Master A-rør (blå)	VK000013
Screw Cap - purple	Skruenhætte til Master B-rør (lilla)	VK000015

Materiale	Betegnelse	Ordrenr.
Screw Cap - white	Skruehætte til NTC-rør (hvid)	VK000016

Tabel 3: Yderligere laboratoriemateriale og udstyr

Materiale	Betegnelse	Ordrenr.
Pladeforsegling	f.eks. AltoStar® Plate Sealer	VK000023
	f.eks. PX1 Plate Sealer (Bio-Rad)	VK000033

7.5 Generelt materiale og udstyr

- Vortex-blander
- Pulverfri handsker (engangshandsker)
- Centrifuge til centrifugering af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 komponenterne
- Centrifuge til centrifugering af PCR-plader

7.6 Procedure

7.6.1 Oversigt over AltoStar® Workflow

Trinene i det komplette AltoStar® Workflow er opsummeret i tabel 4. Oplysninger om specifikke indstillinger til brug med AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 findes i kapitel 7.6.2 Programmering af en AltoStar® kørsel. For detaljerede instruktioner for trin 1-5 henvises til brugsanvisningen for AltoStar® Purification Kit 1.5, AltoStar® Connect-softwaren og AltoStar® AM16.

Trin 6-11 er beskrevet mere detaljeret i kapitel 7.6.3 Start af en PCR-opsætningskørsel til 7.6.10 Eksport af PCR-resultater til manuel fortolkning af resultater.

Tabel 4: Oversigt over AltoStar® Workflow

Trin	Handling
1. Start af AltoStar® AM16	<ul style="list-style-type: none"> Tænd for AltoStar® AM16. Tænd for computeren og skærmen. Start AltoStar® Connect-softwaren.
2. Udfør vedligeholdelse	<ul style="list-style-type: none"> Klik på Application → Instrument Maintenance i menulinjen. <ul style="list-style-type: none"> Hvis der skal foretages ugentlig vedligeholdelse, skal du klikke på Start Weekly Maintenance. Hvis der skal foretages daglig vedligeholdelse, skal du klikke på Start Daily Maintenance. Følg instruktionerne på skærmen for at udføre vedligeholdelse.
3. Programmering af en AltoStar® kørsel	<ul style="list-style-type: none"> I menulinjen klikker du på Program Run → Program Run (AltoStar® Purification). Alternativt kan du gå tilbage til startskærmen og klikke på knappen Program Run. Indtast prøver eller importer fra LIMS. Vælg følgende analyse for prøverne, medmindre de allerede er importeret fra LIMS: <ul style="list-style-type: none"> AltoStar® <i>alpha</i> Herpesvirus PCR Kit 1.5 Klik på knappen Create Run i værktøjslinjen for at oprette AltoStar® kørslen.

Trin	Handling
4. Start en oprensingskørsel	<ul style="list-style-type: none">• Klik på Purification → Start Purification i menulinjen. Alternativt kan du gå tilbage til startskærmen og klikke på knappen Start Purification.• Vælg den oprensingskørsel, der skal startes, for at få vist de prøver, der indgår i den valgte oprensingskørsel.• Forbered oprensingsreagenserne:<ul style="list-style-type: none">◦ Sørg for, at de oprensingsreagenser, der skal anvendes, har det samme ladenummer (undtagen AltoStar® Internal Control 1.5) og ikke er udløbet.◦ Hvis der er synlige udfældninger i Lysis Buffer, opvarmes den ($\leq +50$ °C), indtil den er helt opløst.◦ Optø IC'en (AltoStar® Internal Control 1.5), og udfør hvirvlingsproces i 5 sekunder.◦ Udfør hvirvlingsproces af Magnetic Beads i 5 sekunder, uden at låget bliver vådt.• Forbered prøverne til den oprensingskørsel, der skal startes, som beskrevet i brugsanvisningen til AltoStar® Purification Kit 1.5.• Klik på knappen Start Run i værktøjslinjen.• Følg loading-dialogerne, og load instrumentet i overensstemmelse hermed.• Bekræft meddelelsen Loading complete med OK eller vent 10 sekunder. <p>Systemet vil nu udføre PCR-opsætningskørslen automatisk.</p>

Trin	Handling
<p>5. Afslut oprensingskørslen</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Sørg for, ladebakken er tom, og bekræft dialogboksen Run finished med OK. • Følg instruktionerne i dialogboksen Maintenance, og bekræft med OK. • Forsegl og opbevar de komponenter i AltoStar® Purification Kit 1.5, der kan genbruges. <p>Eluaterne i den ikke-forseglede eluatplade er stabile ved stuetemperatur (maks. +30 °C) i i alt 4 timer.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hvis den tilknyttede PCR-opsætningskørsel ikke startes med det samme, skal eluatpladen forsegles med en Eluate Plate Sealing Foil og opbevares ved +2 °C til +8 °C i op til 24 timer. • Se resultaterne af oprensingskørslen for at bekræfte, at behandlingen af hver prøve er lykkedes.
<p>6. Start af en PCR-opsætningskørsel</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Klik på PCR Setup → Start PCR Setup i menulinjen. Alternativt kan du gå tilbage til startskærmen og klikke på knappen Start PCR Setup. • Vælg den PCR-opsætningskørsel, der skal startes, for at få vist eluatpladen og de reagenser, der er inkluderet i den valgte PCR-opsætningskørsel. • Forbered PCR-reagenserne: <ul style="list-style-type: none"> ◦ Sørg for, at de mastere og kontroller, der skal anvendes, er fra det samme kit-parti og ikke er udløbet. ◦ Optø den nødvendige mængde master- og kontrolrør, udfør en kort hvirvlingsproces og centrifuger dem i en centrifuge. • Hvis eluatpladen er forseglet, centrifugeres pladen kortvarigt, og forseglingen fjernes forsigtigt. • Klik på knappen Start Run i værktøjslinjen. • Følg Loading-dialogerne, og load instrumentet i overensstemmelse hermed. • Bekræft meddelelsen Loading complete med OK eller vent 10 sekunder. <p>Systemet vil nu udføre oprensingskørslen automatisk.</p>

Trin	Handling
7. Færdiggør PCR-opsætningskørslen	<ul style="list-style-type: none"> • Sørg for, ladebakken er tom, og bekræft dialogboksen Run finished med OK. • Følg instruktionerne i dialogboksen Maintenance, og bekræft med OK. • Luk og opbevar de AltoStar® <i>alpha</i> Herpesvirus PCR Kit 1.5-komponenter, der kan genbruges. • Se resultaterne af PCR-opsætningskørslen for at bekræfte, at behandlingen af hver prøve er lykkedes.
8. Forsegl PCR-pladen	<ul style="list-style-type: none"> • Forsegl PCR-pladen med en PCR Plate Sealing Foil.
9. Start PCR-kørslen	<ul style="list-style-type: none"> • Tænd for CFX96™ DW Dx, den tilsluttede computer og skærmen. • Start CFX Manager™ Dx-softwaren. • Åbn CFX96™ DW Dx. • Centrifuger PCR-pladen, og indsæt den i CFX96™ DW Dx. • Vælg File → Open → LIMS File... på menulinjen. • Scan strekkoden på PCR-pladen med den håndholdte strekkodescanner. • Luk CFX96™ DW Dx. • Klik på knappen Start Run for at starte PCR-kørslen. Navngiv og gem PCR-kørselsfilen. <p>CFX96™ DW Dx vil nu automatisk udføre PCR-kørslen.</p>
10. Separér analyser for individuel analyse	<ul style="list-style-type: none"> • Alle analyser i PCR-kørslen skal separeres i forskellige brøndgrupper.
11. Analysér dataene og fortolk resultaterne af PCR-kørslen	<p>Individuelt for hver brøndgruppe:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Udfør basislinjekorrektion i alle brønde for alle anvendte detektionskanaler. • Udeluk brønde med uregelmæssige PCR-signaler. • Indstil tærskelværdierne for alle detektionskanaler i overensstemmelse med kontrollerne. • Udeluk brønde, der indeholder ugyldige data. • Generér LIMS-resultatfilen til eksport af resultater til LIMS. • Generér resultatrapporten til manuel fortolkning af resultatet.

ADVARSEL



Opbevaring af eluater under forkerte betingelser kan føre til nedbrydning af HSV-1-, HSV-2- og/eller VZV-målssekvenserne og kan forringe produktets ydeevne.

7.6.2 Programmering af en AltoStar® kørsel

For detaljerede oplysninger om start af en AltoStar® kørsel henvises til brugsanvisningen til AltoStar® Purification Kit 1.5, AltoStar® Connect-softwaren og AltoStar® AM16. De specifikke indstillinger til brug med AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 er anført nedenfor:

- Der vælges PC og NTC.
- Den nødvendige prøvevolumen er 500 µl plus dødvolumen for det respektive prøverør (se kapitel 7.1 Prøvevolumen og 7.2 Prøverør).
- Den nødvendige eluatmængde for AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 er 10 µl.
- Sørg for, at den korrekte version af analyseprotokollen anvendes til kørslen. For oplysninger om den aktuelle protokolversion henvises der til kapitel 16. Analyseprotokol for AltoStar® Connect-softwaren og oplysninger om LIMS-integration. Den respektive analyseprotokol er kodet i den 2D-stregkode, der vises der. For oplysninger om oprensning og import af analyseprotokoller til AltoStar® Connect-softwaren henvises der til de respektive brugsanvisninger.

ADVARSEL



Brug ikke en anden version af analyseprotokollen end den, der er angivet på 2D-stregkoden i denne brugsanvisning. Brug af en ukorrekt version af en analyseprotokol kan forringe produktets ydeevne.

7.6.3 Start af en PCR-opsætningskørsel

1. Vælg **PCR Setup** → **Start PCR Setup** i menulinjen. Alternativt kan du gå tilbage til Start-skærmen i AltoStar® Connect-softwaren og vælge knappen **Start PCR Setup**. Skærbilledet Start PCR Setup Run vises.

De afventende PCR-opsætningskørsler vises i tabellen Programmed PCR Setup Runs i venstre side af skærmen.

2. Vælg den PCR-opsætningskørsel, der skal startes, i tabellen Programmed PCR Setup Runs.
 - De prøver, der indgår i den valgte PCR-opsætningskørsel, vises i tabellen øverst til højre på skærmen (Samples in selected PCR Setup Run).
 - De kontroller, der er nødvendige for den valgte PCR-opsætningskørsel, vises i tabellen i den midterste højre side af skærmen (Controls in selected PCR Setup Run).
 - Antallet af masterrør, der kræves til den valgte PCR-opsætningskørsel, vises i tabellen nederst til højre på skærmen (Required master tubes for the selected PCR Setup Run).

BEMÆRK



Antallet af prioriterede prøver i en PCR-opsætningskørsel vises i kolonnen **No. of prioritized Samples**. Udfør PCR-opsætningskørsler med prioriterede prøver først for at lette den hurtigste behandling af prioriterede prøver.

Før du klikker på **Start Run**-knappen i værktøjslinjen, skal du forberede de nødvendige reagenser som beskrevet i kapitel 7.6.3.1 Forberedelse af reagenser til en PCR-opsætningskørsel. Hvis den eluatplade, der kræves til den valgte PCR-opsætningskørsel, er blevet forseglet til opbevaring, skal den forberedes som beskrevet i brugsanvisningen til AltoStar® Purification Kit 1.5.

7.6.3.1 Forberedelse af reagenser til en PCR-opsætningskørsel

1. De nødvendige kontroller og det nødvendige antal masterrør optøes fuldstændigt ved stuetemperatur (maks. +30 °C).
2. Reagenserne blandes ved forsigtig hvirvlingsproces.
3. Centrifuger rørene kort for at fjerne dråber fra låget.

ADVARSEL



Manglende centrifugering af produktkomponenterne efter optøning kan forårsage kontaminering med reagensrester i lågene og kan forringe produktets ydeevne.

7.6.3.2 Loading af AltoStar® AM16 til en PCR-opsætningskørsel

For detaljerede oplysninger om indlæsningsprocessen henvises til brugsanvisningen for AltoStar® AM16 og AltoStar® Connect-softwaren.

1. Klik på knappen **Start Run** i værktøjslinjen på skærmen Start PCR Setup Run for at få vist dialogboksen Loading.

Dialogboksen Loading består af en visuel repræsentation af AltoStar® AM16-dækket øverst og en tabel, der angiver holderne, de respektive spor på AltoStar® AM16-dækket for hver holder, det materiale, der skal lades på hver holder, og kommentarer med hensyn til ladning af holdere.

BEMÆRK

For at visualisere placeringen af et emne på en holder og holderens placering på AltoStar® AM16-dækket skal du vælge den pågældende række i tabellen i dialogboksen Loading.

i

Placeringen af emnet og dets holder visualiseres:

- Fremhævet med rødt i den visuelle repræsentation af instrumentdækket
- På AltoStar® AM16 ved blinkende ladelys over de spor, hvor den valgte holder skal placeres

2. Det nødvendige materiale, den forberedte eluatplade og de forberedte reagenser lades på de egnede holdere.
 - Udskift kun **helt tomme** 1.000 µl spidsracks med **helt fyldte** 1.000 µl spidsracks på spidsholderen.
 - Udskift kun **helt tomme** 300 µl spidsracks med **helt fyldte** 300 µl spidsracks på spids- og pladeholderen.

BEMÆRK



Udskiftning af spidsracks, som ikke er helt tomme, samt håndtering af individuelle spidser kan forstyrre den automatiske spidshåndtering og forårsage afbrydelser af kørsler.

- Placér den ønskede eluatplade med brønd A1 til venstre for den sorte pladeposition.
- Placér en PCR-plade med brønd A1 til venstre for positionen for den forreste sølvplade.
- Lad en rørholder 24 med et ubrugt poolingrør for hver analyse i PCR-opsætningskørslen.
- Skub forsigtigt rørene helt ned i bunden af holderen, og drej rørene, indtil stregkoderne på rørene er synlige gennem ruden i holderen.
- Reagensrørholderen 32 lades med de analysekomponenter, der er nødvendige for PCR-opsætningskørslen.
- Skub forsigtigt rørene helt ned i bunden af holderen, og drej rørene, indtil stregkoderne på rørene er synlige gennem ruden i holderen.

BEMÆRK



Placeringen af de enkelte rør på holderne er vilkårlig.

BEMÆRK



De indlæste komponenters volumen kontrolleres ikke af systemet før behandlingen. Utilstrækkelig komponentvolumen vil forhindre en vellykket PCR-opsætning for den pågældende analyse.

BEMÆRK



Hvis du starter en PCR-opsætningskørsel, hvor lågene stadig er på rørene, kan det medføre, at kørslen afbrydes under behandlingen.

3. Holderne lades med holderstregkoden vendt bagud mod højre.
4. Sæt de fyldte holdere ind i de respektive spor mellem de forreste og bageste glideblokke på ladebakken, indtil de rører ved stopkrogene på den anden side af ladebakken.

BEMÆRK



Hvis du skubber holderne forbi stopkrogene, kan du beskadige instrumentet og forstyrre ladeprocessen.

5. Kontrollér, at spidsudkastbladet og affaldsbeholderen til spidser er i den korrekte position, og at der er lagt en ny affaldspose i beholderen.
6. Klik på **OK** i dialogboksen Loading for at fortsætte med ladeprocessen.

BEMÆRK



Ved at klikke på **Cancel** afbrydes PCR-opsætningskørslen, men den kan startes igen (se kapitel 7.6.3 Start af en PCR-opsætningskørsel).

AltoStar® AM16 trækker holderne ind i instrumentet og udfører stregkodeverifikation.

BEMÆRK



AltoStar® AM16 verificerer automatisk:

- Korrekt type og lokalisering af de ladede holderne
- Korrekt identitet og placering af de emner, der er ladet på holderne
- Partioverensstemmelse mellem komponenterne i de enkelte AltoStar® analyse-kits
- Alle de ladede AltoStar® analysekomponenter er ikke udløbet
- Korrekt placering af spidsudkastningsbladet

Hvis en af disse kontroller fejler, får brugeren en besked med en dialogboks, der angiver det pågældende problem og instruktioner om at rette problemet. For yderligere oplysninger om fejlhåndtering henvises til brugsanvisningen til AltoStar® Connect-softwaren.

BEMÆRK



Ændring af positionerne af de ladede emner, efter at holderen er blevet trukket ind i instrumentet, kan medføre, at PCR-opsætningen afbrydes og/eller beskadige instrumentet.

Når alle kontroller er bestået, vises dialogboksen Loading complete.

7. Bekræft dialogboksen Loading complete ved at klikke på **OK** eller vent 10 sekunder på, at processen starter automatisk.

BEMÆRK



Ved at klikke på **Cancel** afbrydes PCR-opsætningskørslen, men den kan startes igen (se kapitel 7.6.3 Start af en PCR-opsætningskørsel).

PCR-opsætningskørslen er startet og vil blive udført uden brugerindgreb.

7.6.3.3 Under PCR-opsætningskørslen

Der er ikke behov for yderligere brugerinteraktion, før PCR-opsætningskørslen er afsluttet. Skærbilledet Processing Status vises og viser status for PCR-opsætningskørslen og den forventede resterende tid.

BEMÆRK



Hvis der skubbes eller trækkes i holdere eller klappen til AltoStar® AM16 under en PCR-opsætningskørsel, kan det afbryde kørslen.

7.6.4 Afslutning af PCR-opsætningskørsel

Ved afslutningen af PCR-opsætningskørslen vises dialogboksen Run finished.

1. Sørg for, at ladebakken er tom.
2. Bekræft dialogboksen Run finished ved at klikke på **OK**.

AltoStar® AM16 tømmer holderne. Sørg for, at du ikke står i vejen for holderne, der tømmes.

Efter tømning vises dialogboksen Maintenance.

3. Følg instruktionerne i dialogboksen Maintenance.

Tabellen i dialogboksen viser antallet af reaktioner i masterrørene, som ikke blev brugt i PCR-opsætningskørslen.

4. Hvis en anden PCR-opsætningskørsel med den aktuelle eluatplade skal startes med det samme, kan eluatpladen forblive uforseglet på holderpositionen. Hvis dette **ikke** er tilfældet, forsegles og opbevares eluatpladen. For yderligere oplysninger henvises der til brugsanvisningen til AltoStar® Purification Kit 1.5.

BEMÆRK



Eluaterne i eluatpladen er stabile ved stuetemperatur (maks. +30 °C) i i alt 4 timer efter afslutningen af oprensingskørslen.

5. Reagensrørene lukkes med passende ubrugte rørhætter.

ADVARSEL



Genbrug ikke rørhætter, da dette kan forårsage kontaminering af reagenserne og forringe produktets ydeevne.

6. Opbevar reagenser med henblik på genbrug som beskrevet i kapitel 4.2 Håndtering.
7. Bortskaf af de anvendte materialer (se kapitel 10. Bortskaffelse).
8. Bekræft dialogboksen Maintenance ved at klikke på **OK**.

7.6.4.1 Resultater af PCR-opsætningskørsel

Resultaterne af PCR-opsætningskørslen gemmes i AltoStar® Connect-softwaren.

1. Klik på **PCR Setup** → **PCR Setup Results** i menulinjen for at få adgang til skærbilledet Results.

Skærbilledet Results viser en tabel med alle prøver, der er anvendt i den seneste PCR-opsætningskørsel, og en kolonne med **Status** til højre, der viser, om PCR-opsætningsprocessen for en given prøve blev udført fuldstændigt (se tabel 5).

Tabel 5: Resultater af PCR-opsætningskørsel

Status	Resultater af PCR-opsætningskørsel
Processed	<ul style="list-style-type: none"> • Eluatet blev behandlet med succes i PCR-opsætningskørslen. • Den resulterende PCR-blanding er klar til brug i en PCR-kørsel.
Error	<ul style="list-style-type: none"> • Eluatet blev ikke behandlet med succes. • Den pågældende PCR-blanding vil automatisk blive udeladt i den efterfølgende PCR-analyse.

2. Hvis du vil se resultaterne af tidligere PCR-opsætningskørsler, skal du klikke på knappen **Load** i menulinjen, vælge den ønskede PCR-opsætningskørsel fra listen i dialogboksen Load Results, som åbnes, og klikke på **OK**.

AltoStar® Connect-softwareen genererer automatisk 3 resultatfiler fra PCR-opsætningskørslen:

- En LIMS-fil (.xml) til at sende detaljerede oplysninger om PCR-opsætningskørslen, herunder resultater, tilbage til LIMS
- En rapport (.pdf) med detaljerede oplysninger om PCR-opsætningskørslen, herunder resultater til dokumentationsformål
- En cyclus-fil (.plrn) til automatisk programmering af CFX96™ DW Dx

Disse filer gemmes på den placering, der er angivet i systemindstillingerne i AltoStar® Connect-softwaren.

BEMÆRK



Resultatfiler fra PCR-opsætningskørslen kan genereres igen ved at indlæse den pågældende PCR-opsætningskørsel og klikke på knappen **Create LIMS File** for at generere LIMS-filen, på knappen **Create Report** for at generere rapporten eller på knappen **Create Bio-Rad Cycler File** for at generere cyclus-filen.

7.6.5 Forsegling af PCR-pladen

Når PCR-opsætningskørslen er afsluttet, skal PCR-pladen forsegles med en PCR Plate Sealing Foil. Det anbefales at bruge AltoStar® Plate Sealer [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)] eller PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad). Brugeren skal selv vurdere, om andre pladeforseglere end de anbefalede pladeforseglere er egnede.

Hvis der anvendes en af de anbefalede pladeforseglere til forsegling, skal du gå frem som følger:

1. Tænd for pladeforsegleren, og sørg for, at pladeadapteren ikke er i skuffen.
2. Sørg for, at indstillingerne for pladeforsegleren er som følger:

Tabel 6: Indstillinger for pladeforsegler

Pladeforsegler	Indstillinger	
	Temperatur [°C]	Tid [s]
AltoStar® Plate Sealer [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)]	170	2
PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)	175	3

3. Vent, indtil den indstillede temperatur er nået. Det kan tage flere minutter.
4. Placér PCR-pladen på pladeadapteren på pladeforsegleren.
5. Placér én PCR Plate Sealing Foil på PCR-pladen, så trykket "THIS SIDE UP" (denne side opad) kan læses. Sørg for, at alle brønde på PCR-pladen er dækket af folie, og at ingen brønde er skjult af skriften.




BEMÆRK



Hvis pladeforsegleren anvendes, uden at pladeadapteren er placeret i skuffen, kan det medføre, at forsegleren ikke fungerer. I dette tilfælde skal du kontakte altona Diagnostics' tekniske support for at få hjælp (se kapitel 12. Teknisk support).

BEMÆRK

Hvis PCR Plate Sealing Foil eller rammen er placeret forkert, kan folien klæbe til varmepladen i pladeforsegleren under forseglingen. Dette vil gøre forsegleren ufunktionel. I dette tilfælde, eller hvis forseglingsstrinnet er påbegyndt uden en PCR Plate Sealing Foil, skal du lade pladeforsegleren køle ned til stuetemperatur og kontakte Altona Diagnostics' tekniske support for at få hjælp (se kapitel 12. Teknisk support).

6. Saml forseglingsrammen på toppen for at holde tætningsfolien nede.
7. Åbn skuffen ved at trykke på **Operate***/ ** knappen.
8. Anbring samlingen bestående af pladeadapteren, PCR-pladen, PCR Plate Sealing Foil og forseglingsrammen i pladeforsegleren og tryk på **Operate***/ ** knappen.
9. Skuffen lukker automatisk, forsegler i den indstillede tid og åbner automatisk igen.
10. Tag den forseglede PCR-plade og pladeadapteren ud af pladeforsegleren, og luk pladeforsegleren ved at trykke på **Close***/ ** knappen.

* AltoStar® Plate Sealer[4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)]

**PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)

7.6.5.1 PCR-blandingens stabilitet

Efter afslutning af PCR-opsætningskørslen er PCR-blandingen i den forseglede PCR-plade stabil ved stuetemperatur (maks. +30 °C) i 30 minutter.

ADVARSEL

Overskrid ikke opbevaringstiden for PCR-blandingen, da dette kan forringe produktets ydeevne.

7.6.6 Start af en PCR-kørsel

PCR-kørslen udføres på en CFX96™ DW Dx under kontrol af CFX Manager™ Dx-softwaren.

1. Tænd for CFX96™ DW Dx, den tilsluttede computer og skærmen.
2. Start CFX Manager™ Dx-softwaren.
3. I menulinjen i CFX Manager™ Dx-softwaren skal du vælge **File** → **Open** → **LIMS File...** for at åbne dialogboksen Open LIMS File.
4. I dialogboksen, der åbnes, Open LIMS File, skal du sikre dig, at markøren blinker i feltet **File name** i bunden. Hvis det ikke er tilfældet, skal du klikke i feltet **File name**.
5. Scan PCR-pladens stregkode med den håndholdte stregkodescanner for automatisk at vælge og åbne den korrekte LIMS-fil. Dialogboksen Run Setup vises.

BEMÆRK



Alle parametre, der kræves til start af PCR-kørslen, overføres automatisk fra AltoStar® Connect-softwaren til CFX96™ DW Dx ved hjælp af cyclefilen.

6. Klik på knappen **Open Lid** i dialogboksen Run Setup for at åbne låget på CFX96™ DW Dx.
7. Centrifuger kortvarigt den forseglede PCR-plade for at sikre, at al væsken er i bunden af brøndene.
8. Sæt den forseglede PCR-plade ind i varmeblokken på CFX96™ DW Dx med brønd A1 til venstre.
9. Luk CFX96™ DW Dx ved at klikke på knappen **Close Lid** i dialogboksen Run Setup.
10. Start PCR-kørslen ved at klikke på knappen **Start Run** i dialogboksen Run Setup.

7.6.6.1 Under PCR-kørslen

Der kræves ingen brugerinteraktion, før PCR-kørslen er afsluttet. Dialogboksen Run Details vises med status for PCR-kørslen og den forventede resterende tid.

BEMÆRK



Hvis du åbner låget på CFX96™ DW Dx under en PCR-kørsel ved at betjene knappen på forsiden af låget eller ved at klikke på **Open Lid** i dialogboksen Run Details, afbrydes kørslen og alle resultater bliver ugyldige.

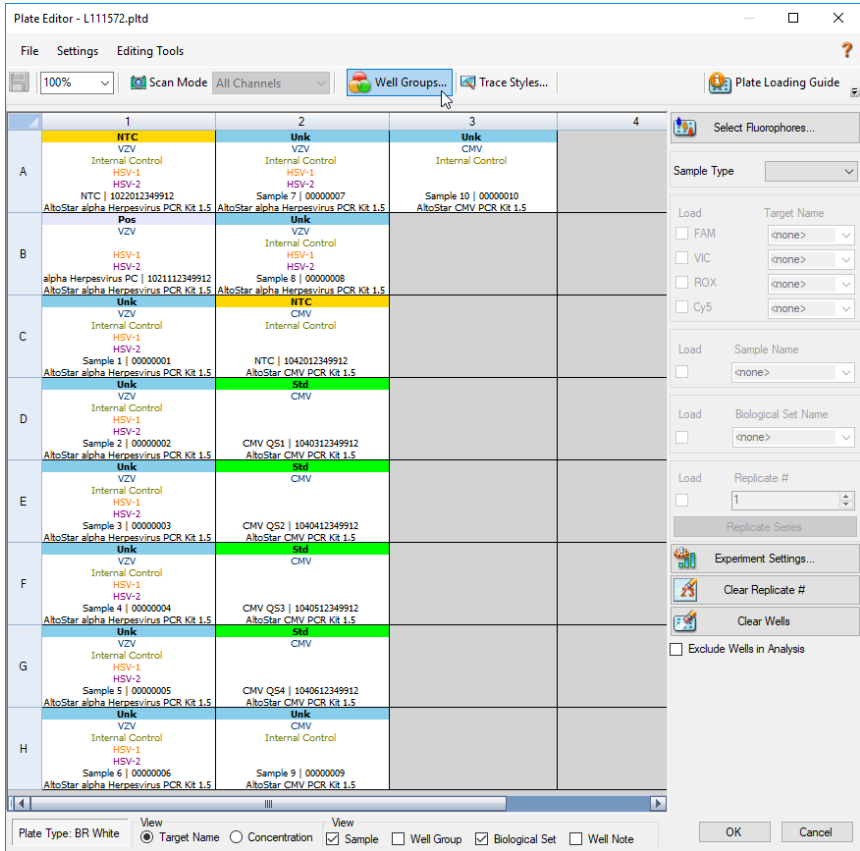
Ved afslutningen af PCR-kørslen vises Data Analysis-vinduet, som viser amplifikationskurverne, pladelayoutet og resultaterne.

7.6.6.2 Tildeling af analyser til brøndgrupper

AltoStar® Workflow behandler en eller flere PCR-analyser samtidigt på én PCR-plade. Hver analyse skal dog analyseres separat af brugeren i henhold til brugsanvisningen for den pågældende analyse.

Med henblik herpå skal alle analyser på en PCR-plade tildeles individuelle brøndgrupper i CFX Manager™ Dx-softwaren af brugeren.

1. I Data Analysis-vinduet klikker du på knappen **Plate Setup** i værktøjslinjen og vælger **View/Edit Plate**. Dialogboksen Plate Editor vises (se figur 1).



Figur 1: Dialogboks for Plade Editor

2. I dialogboksen Plate Editor klikker du på **Well Groups...** i værktøjslinjen. Dialogboksen Well Groups Manager vises (se figur 2).
3. Klik på knappen **Add**.
4. Indtast navnet på den første analyse i tekstfeltet.

5. Vælg alle brønde i PCR-pladeområdet, der hører til den første analyse (se figur 2). Brøndene, der tilhører en individuel analyse, kan identificeres i dialogboksen Plate Editor ved indtastningen i feltet **Biological Set**.

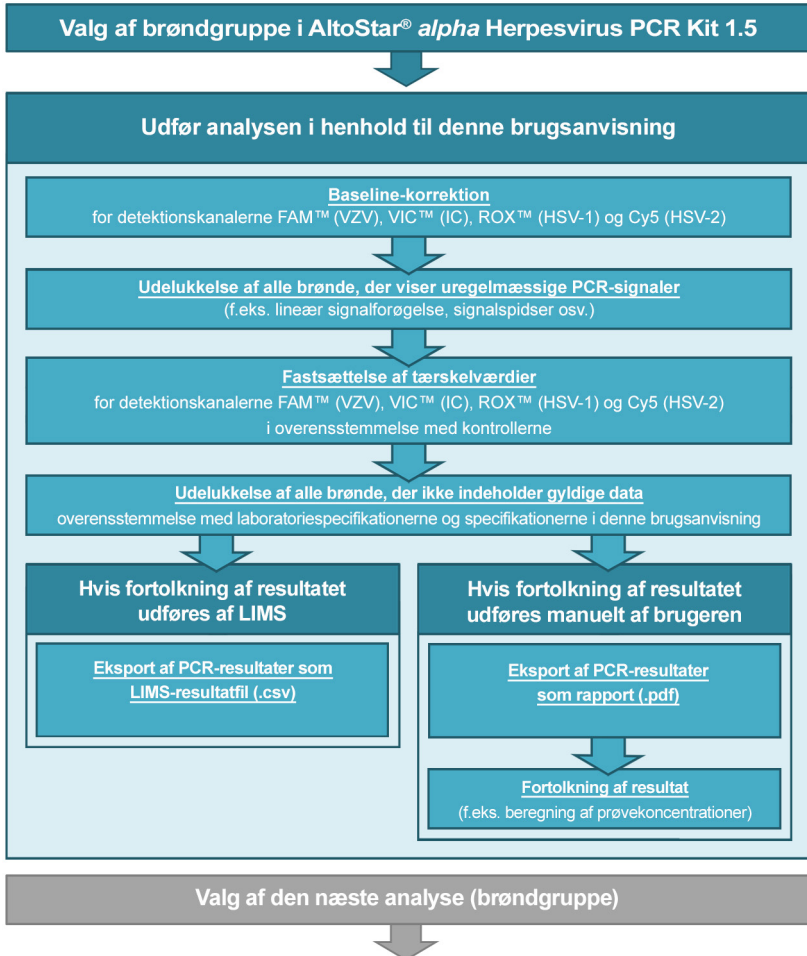
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NTC	Unk	Unk									
B	Pos	Unk										
C	Unk	NTC										
D	Unk	Std										
E	Unk	Std										
F	Unk	Std										
G	Unk	Std										
H	Unk	Unk										

Figur 2: Dialogboks for Well Groups Manager

6. Gentag trin 3-5 for alle analyser på PCR-pladen.
7. Bekræft brøndgruppetilordningen ved at klikke på **OK**. Dialogboksen Well Groups Manager lukkes.
8. Luk dialogboksen Plate Editor ved at klikke på **OK**.
9. Bekræft for at anvende ændringerne ved at klikke på **Yes**.

7.6.7 PCR-dataanalyse

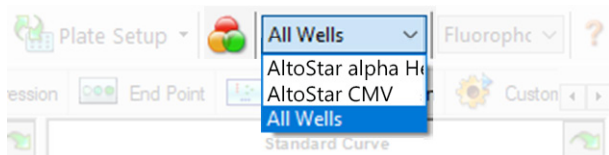
Resultaterne af alle analyser (brøndgrupper) på PCR-pladen skal analyseres i den rækkefølge, der er vist i figur 3.



Figur 3: PCR-dataanalyseproces

Sørg for at vælge AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 **Well Group** i Data Analysis-vinduet. Klik derfor på rullemenuen **Well Group** lige ved siden af knappen **Well Group** (se figur 4) på værktøjslinjen. Brug ikke **Well Group** "All Wells". Udvælgelsen i figur 4 anvendes som et generelt eksempel på en visning.

Før du analyserer resultaterne, skal du sikre dig, at AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5-brøndgruppen indeholder alle AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5-brønde og ingen brønde fra andre analyser.



Figur 4: Knappen Well Group og rullemenu for Well Group

BEMÆRK



Kombineret analyse af mere end én analyse kan føre til ukorrekte resultater.

ADVARSEL



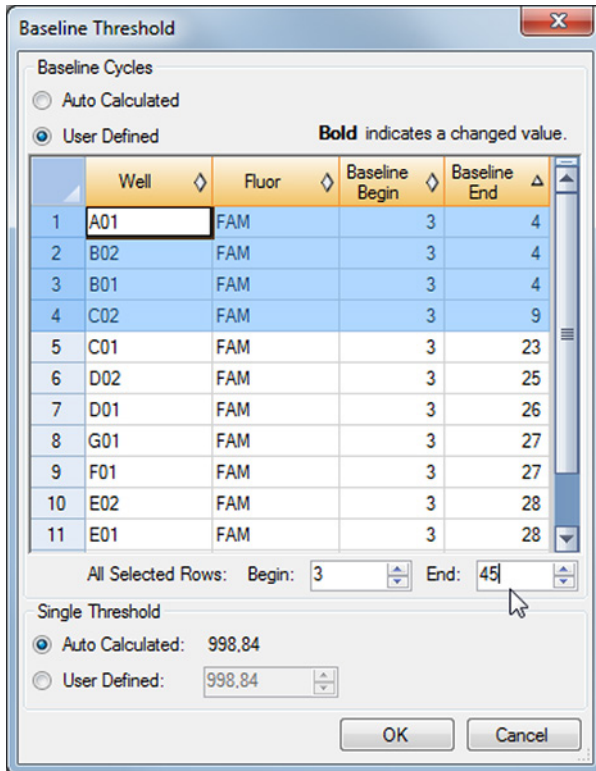
Som ved enhver diagnostisk test skal resultaterne fortolkes under hensyntagen til alle kliniske og laboratoriemæssige resultater.

7.6.7.1 Baseline-korrektion

De basislinjeindstillinger, der bruges af CFX Manager™ Dx-softwaren, skal muligvis korrigeres for individuelle analysebrønde (**Well Group**) under analyse.

1. Sørg for at vælge AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 **Well Group** i Data Analysis-vinduet. Klik derfor på rullemenuen **Well Group** lige ved siden af knappen **Well Group** (se figur 4) på værktøjslinjen.
2. I venstre side af Data Analysis-vinduet skal du kun markere **FAM**-afkrydsningsfeltet for VZV måldetektionskanalen.

3. Klik på **Settings** → **Baseline Threshold...** i menulinjen i Data Analysis-vinduet for at åbne dialogboksen Baseline Threshold (se figur 5).
4. Klik én gang på \diamond -symbolet i **Baseline End**-kolonneoverskriften for at sortere tabellen efter stigende **Baseline End**-værdier.
5. Vælg alle linjer, der viser en **Baseline End**-værdi på 1-9 (se figur 5).



Figur 5: Dialogboks for Baseline Threshold

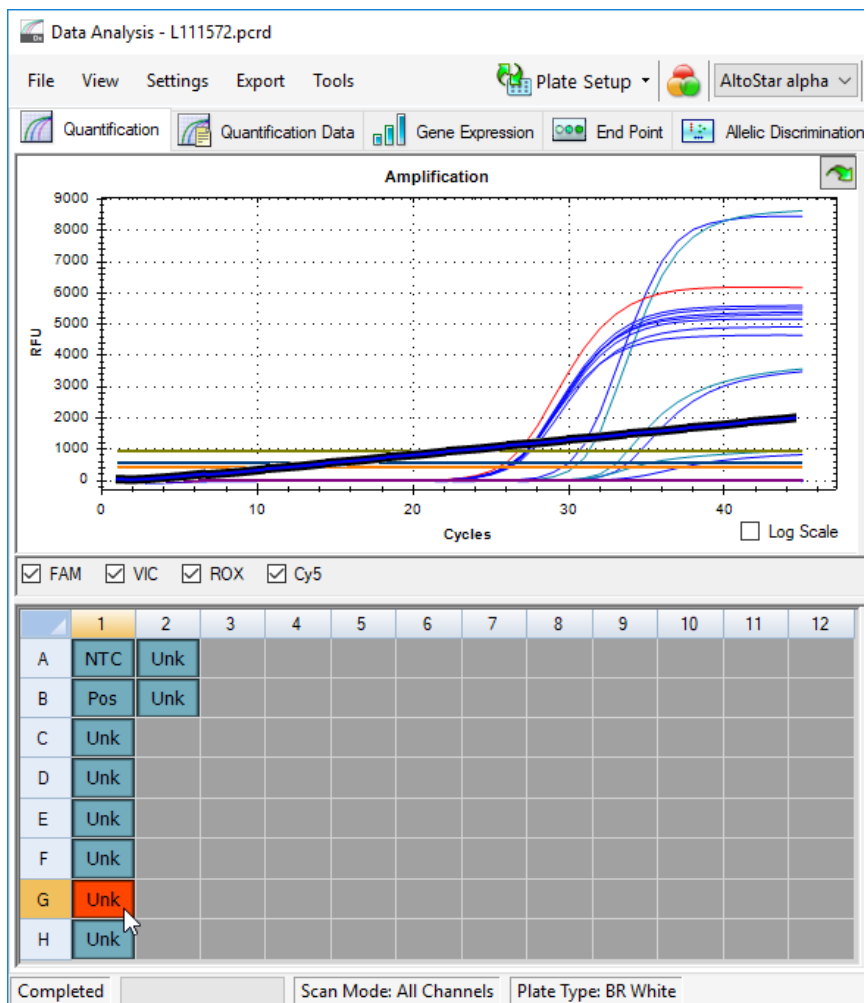
6. Indstil værdien i feltet **End**: til 45 for de valgte linjer (se figur 5).
7. Bekræft indstillingerne ved at klikke på **OK**.
8. Fjern afkrydsningen i afkrydsningsfeltet **FAM** i venstre side af Data Analysis-vinduet, og afkryds kun i afkrydsningsfeltet **VIC** for IC-måledetektkanalen.
9. Gentag trin 3-7 for VIC™ (IC), ROX™ (HSV-1-mål) og Cy5 (HSV-2-mål) detektkanalerne.

7.6.7.2 Udelukkelse af uregelmæssige PCR-signaler

Gyldige resultater kan kun udledes af PCR-signaler, der er fri for signalartefakter, som kan være forårsaget ved f.eks. urenheder eller bobler i PCR-blandingen. PCR-signaler, der indeholder signalartefakter, skal udelukkes af brugeren.

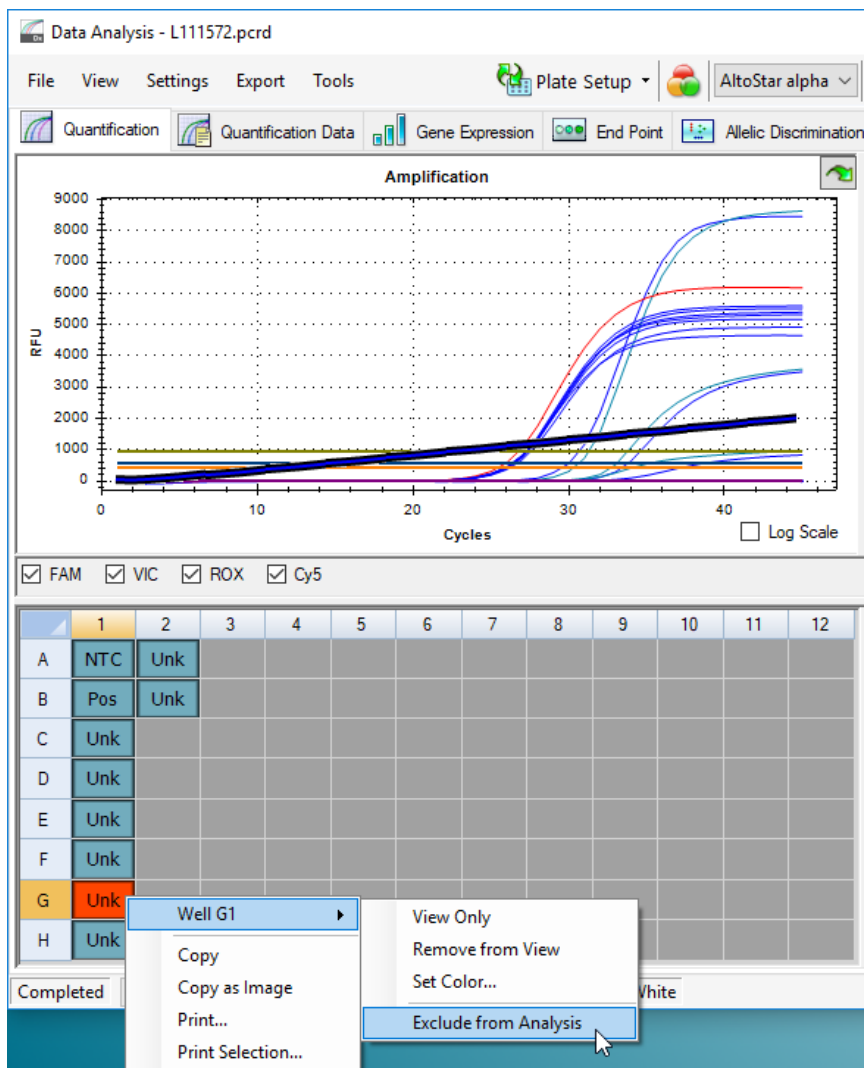
1. Sørg for at vælge AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 **Well Group** i Data Analysis-vinduet. Klik derfor på rullemenuen **Well Group** lige ved siden af knappen **Well Group** (se figur 4) på værktøjslinjen.

2. Identificér brønde med uregelmæssige PCR-signaler (lineær signalførøgelse, signal-spikes osv.) i en af FAM™ (VZV-mål), VIC™ (IC), Cy5 (HSV-2-mål) eller ROX™ (HSV-1-mål) detektionskanalerne (se figur 6).



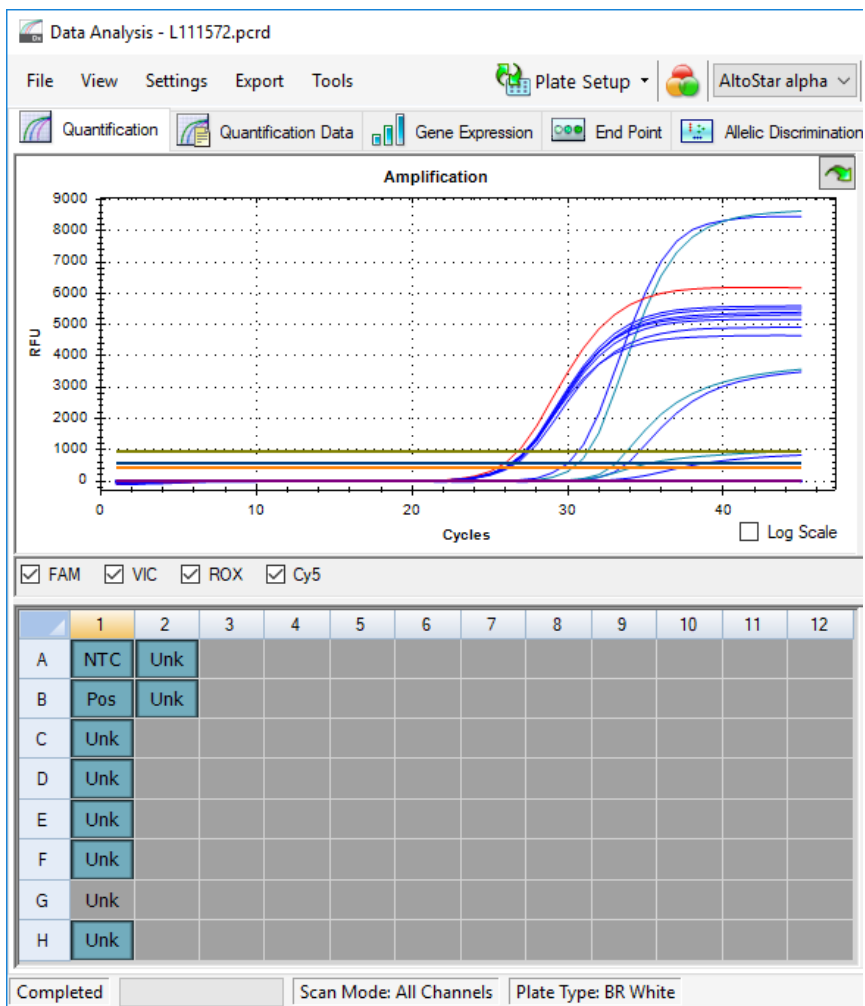
Figur 6: Data Analysis-vinduet: Uregelmæssigt PCR-signal

3. Klik på hver berørt brønd med højre museknap, og vælg **Well...** → **Exclude from Analysis** (se figur 7).



Figur 7: Data Analysis-vinduet: Udeluk brønd fra analyse

4. Den valgte brønd er udlukket fra analysen. Der genereres ikke nogen resultater fra denne brønd (se figur 8).



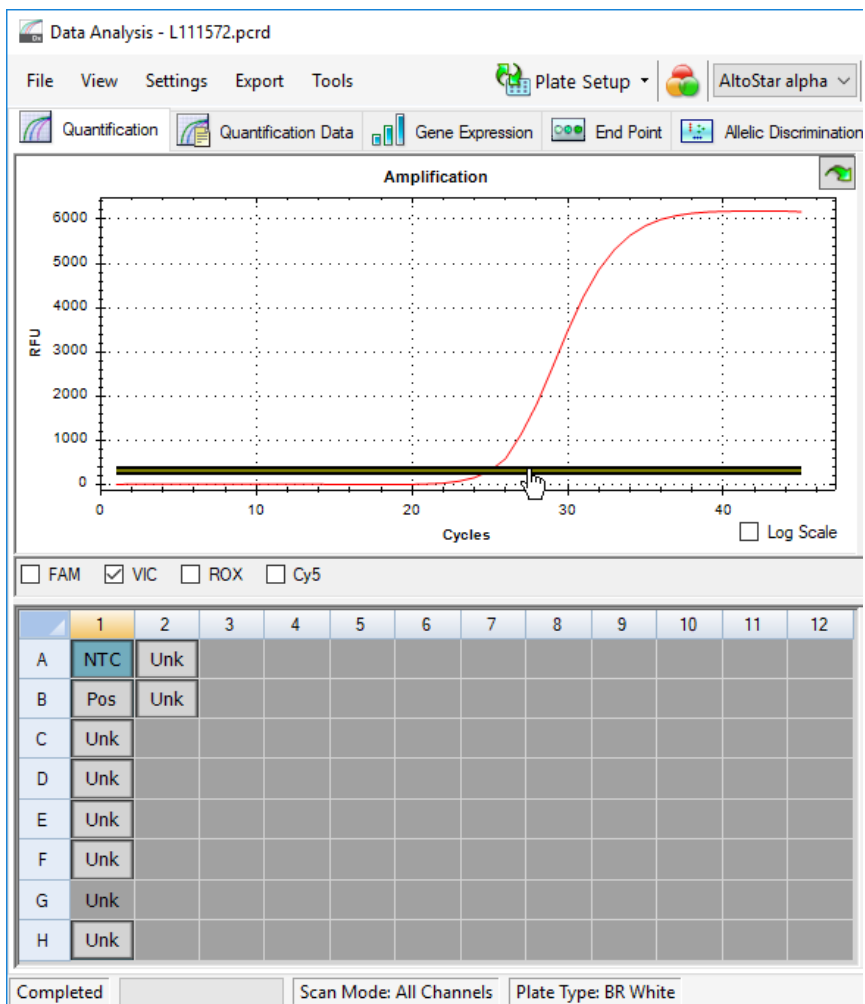
Figur 8: Data Analysis-vinduet: Udelukket brønd

7.6.7.3 Indstilling af tærskelværdier

Tærskelværdierne for FAM™ (VZV-mål), VIC™ (IC), Cy5 (HSV-2-mål) og ROX™ (HSV-1-mål) detektionskanalerne skal indstilles manuelt af brugeren i overensstemmelse med signalerne fra kontrollerne.

1. Sørg for at vælge AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 **Well Group** i Data Analysis-vinduet. Klik derfor på rullemenuen **Well Group** lige ved siden af knappen **Well Group** (se figur 4) på værktøjslinjen.

2. I venstre side af Data Analysis-vinduet skal du kun markere **VIC**-afkrydsningsfeltet for IC'ens detektionskanal (se figur 9).



Figur 9: Data Analysis-vinduet: Indstilling af VIC™ tærskelværdien

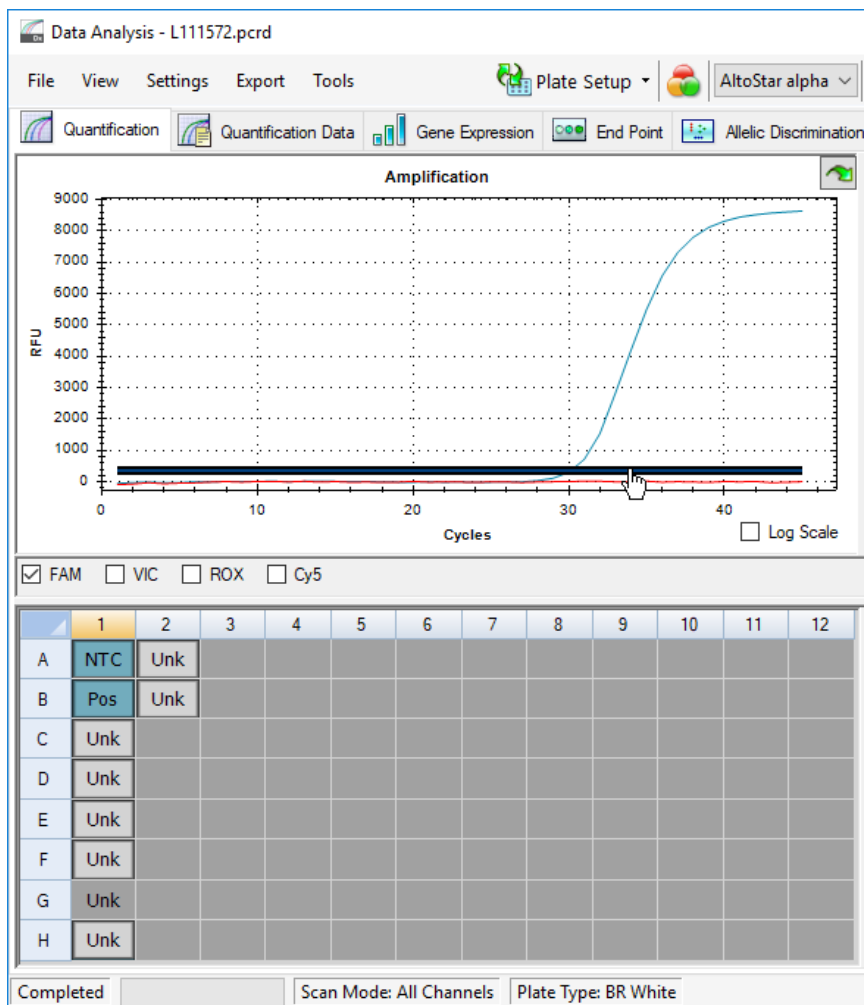
3. Vælg kun NTC-brønden i pladevisningen i Data Analysis-vinduet (se figur 9).
4. Træk tærskelværdien ind i det eksponentielle område af NTC-signalet (se figur 9).

BEMÆRK



NTC'en indeholder IC-skabelonen, som fører til et IC-signal i en gyldig NTC-brønd.

5. I venstre side af Data Analysis-vinduet fjernes afkrydsningen i afkrydsningsfeltet **VIC**, og der afkrydses i afkrydsningsfeltet **FAM** for VZV-målets detektionskanal (se figur 10).



Figur 10: Data Analysis-vinduet: Indstilling af FAM™ tærskelværdien

- Vælg kun brøndene, der indeholder NTC'en og PC'en i pladevisningen i Data Analysis-vinduet (se figur 10).
- Træk tærskelværdibrønden over NTC-signalet ind i det eksponentielle område af PC-signalet (se figur 10).

8. Fjern markeringen i **FAM**-afkrydsningsfeltet i venstre side af Data Analysis-vinduet for detektionskanalen for HSV-1- og HSV-2-målet, og markér henholdsvis **ROX**- og **Cy5**-afkrydsningsfelterne, og gentag trin 6 og 7.

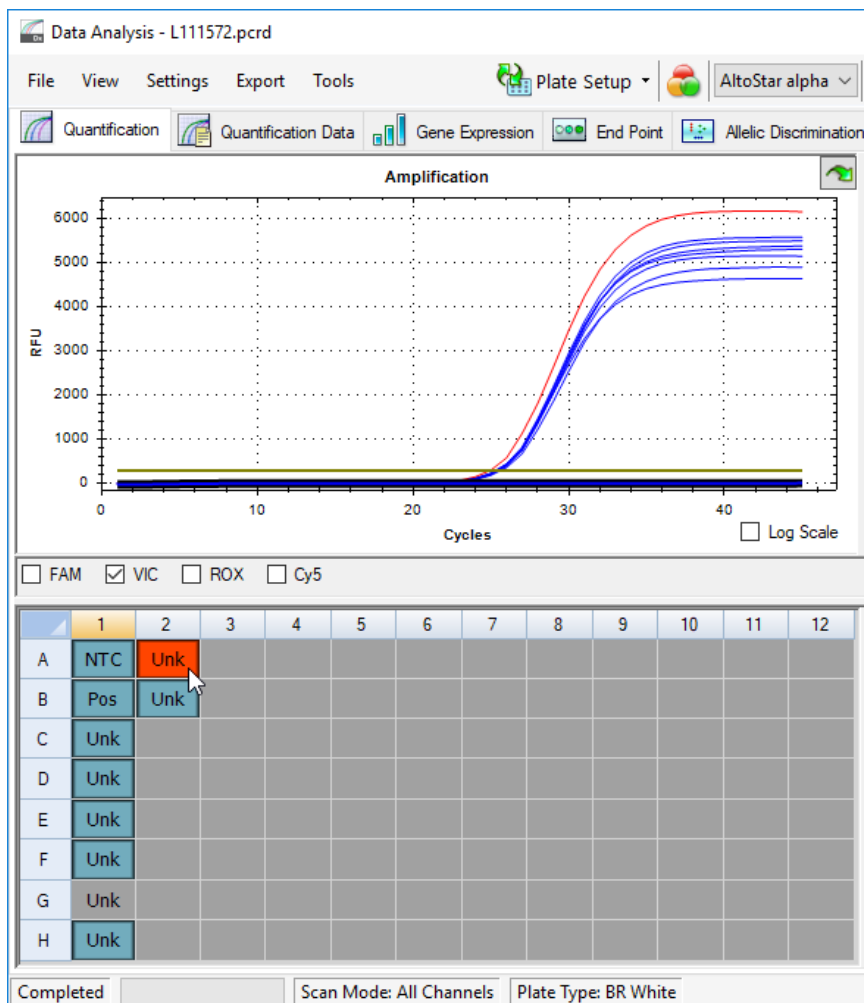
7.6.8 Validitet af PCR-resultater

7.6.8.1 Udelukkelse af brønde, der indeholder ugyldige data

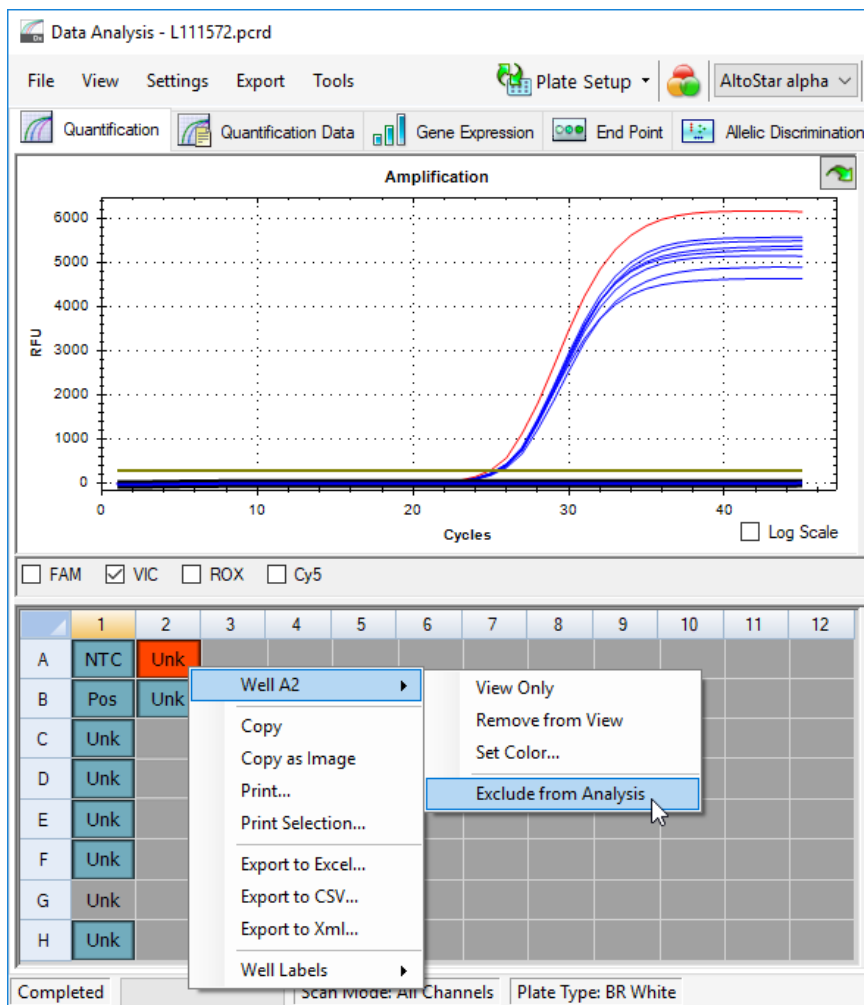
Brønde, der ikke indeholder gyldige data, skal udelukkes fra resultatgenerering af brugeren.

1. Sørg for at vælge AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 **Well Group** i Data Analysis-vinduet. Klik derfor på rullemenuen **Well Group** lige ved siden af knappen **Well Group** (se figur 4) på værktøjslinjen.
2. Identificér alle brønde, der indeholder ugyldige data. En brønd er ugyldig, hvis en af følgende betingelser gælder:
 - a) Den komplette kørsel er ugyldig (se kapitel 7.6.8.2 Validitet af en diagnostisk PCR-kørsel).
 - b) Brøndataene opfylder ikke kontrolbetingelserne for et gyldigt resultat (se kapitel 7.6.8.3 Validitet af resultaterne for en prøve).

- Klik på hver brønd, der indeholder ugyldige data i henhold til kapitlerne 7.6.8.2 Validitet af en diagnostisk PCR-kørsel til 7.6.8.3 Validitet af resultaterne for en prøve med højre museknap, og vælg **Well...** → **Exclude from Analysis** (se figur 11 og 12).



Figur 11: Data Analysis-vinduet: Ugyldig brønd



Figur 12: Data Analysis-vinduet: Udeluk ugyldig brønd fra analyse

Den valgte brønd er udelukket fra analysen. Der genereres ikke nogen resultater for denne brønd.

7.6.8.2 Validitet af en diagnostisk PCR-kørsel

En diagnostisk PCR-kørsel er **gyldig**, hvis følgende kontrolbetingelser er opfyldt:

Tabel 7: Kontrolbetingelser for en gyldig PCR-kørsel

Kontrol	Detektionskanal			
	FAM™ (VZV-mål)	ROX™ (HSV-1-mål)	Cy5 (HSV-2-mål)	VIC™ (IC)
PC	+	+	+	Ikke relevant
NTC	-	-	-	+

En diagnostisk PCR-kørsel er **ugyldig**, hvis:

- Kørslen ikke er blevet fuldført.
- Nogle af kontrolbetingelserne for en gyldig diagnostisk PCR-kørsel ikke er opfyldt.

I tilfælde af en ugyldig diagnostisk PCR-kørsel skal du udelukke alle brønde fra analysen og gentage AltoStar® kørslen med udgangspunkt i de oprindelige prøver.

7.6.8.3 Validitet af resultaterne for en prøve

Resultatet for en individuel prøve er **ugyldigt**, hvis signalerne i VIC™ (IC), FAM™ (VZV-mål), Cy5 (HSV-2-mål) og ROX™ (HSV-1-mål) detektionskanalerne er negative (se tabel 8). I tilfælde af et ugyldigt resultat for en prøve skal du udelukke brønden fra analysen og gentage test fra den originale prøve eller indsamle og teste en ny prøve.

Tabel 8: Resultatvaliditet

Detektionskanal				Resultatvaliditet
FAM™ (VZV-mål)	ROX™ (HSV-1-mål)	Cy5 (HSV-2-mål)	VIC™ (IC)	
+	+	+	+/-*	Gyldigt resultat
+	+	-	+/-*	Gyldigt resultat
+	-	+	+/-*	Gyldigt resultat
-	+	+	+/-*	Gyldigt resultat
+	-	-	+/-*	Gyldigt resultat
-	+	-	+/-*	Gyldigt resultat
-	-	+	+/-*	Gyldigt resultat
-	-	-	+	Gyldigt resultat
-	-	-	-	Ugyldigt resultat

* Detektion af IC er ikke påkrævet, når VZV- og/eller HSV-1- og/eller HSV-2-målet er detekteret. En høj VZV og/eller HSV-1 og/eller HSV-2 DNA-belastning i prøven kan føre til et reduceret eller fraværende IC-signal.

7.6.9 Eksport af PCR-resultater for automatiseret fortolkning af resultat

For at gøre PCR-kørselsresultaterne tilgængelige for et forbundet LIMS med henblik på automatiseret resultattolkning skal de eksporteres i form af en LIMS-resultatfil (.csv).

1. Sørg for at vælge AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 **Well Group** i Data Analysis-vinduet. Klik derfor på rullemenuen **Well Group** lige ved siden af knappen **Well Group** (se figur 4) på værktøjslinjen.
2. Sørg for, at alle trin i analyseprocessen (se kapitlerne 7.6.7.1 Baseline-korrektion til 7.6.8.1 Udelukkelse af brønde, der indeholder ugyldige data) er gennemført for AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5-brøndgruppen.
3. Klik på **Export** → **Export All Data Sheets** i menulinjen i Data Analysis-vinduet for at åbne dialogboksen Browse For Folder.

4. I dialogboksen Browse For Folder skal du angive placeringen for de LIMS-resultatfiler, der skal genereres, og klikke på **OK**.

BEMÆRK



LIMS-integrationen skal implementeres i overensstemmelse med altona Diagnostics' specifikationer. For oplysninger om LIMS-integration, se kapitel 16. Analyseprotokol for AltoStar® Connect-softwaren og oplysninger om LIMS-integration og/eller kontakte altona Diagnostics' tekniske support (se kapitel 12. Teknisk support).

BEMÆRK



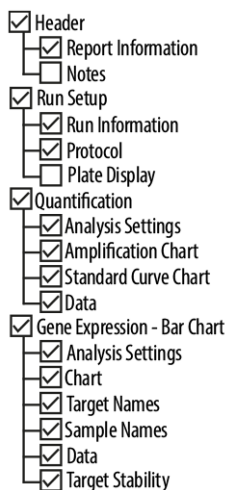
Hvis du gemmer resultaterne af mere end én analyse (brøndgruppe) fra en PCR-kørsel i den samme mappe, erstattes LIMS-resultatfilerne fra den første analyse (brøndgruppe) med LIMS-resultatfilerne fra den anden analyse (brøndgruppe). I dette tilfælde kan LIMS-resultatfilerne for den første analyse (brøndgruppe) eksporteres igen.

7.6.10 Eksport af PCR-resultater til manuel fortolkning af resultater

Hvis resultaterne ikke sendes til et LIMS til automatisk fortolkning af resultaterne, skal fortolkningen af resultaterne foretages manuelt af brugeren. Til dette formål skal analyseresultaterne for hver analyse (brøndgruppe) eksporteres i form af en rapport.

1. Sørg for at vælge AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 **Well Group** i Data Analysis-vinduet. Klik derfor på rullemenuen **Well Group** lige ved siden af knappen **Well Group** (se figur 4) på værktøjslinjen.
2. I venstre side af Data Analysis-vinduet afkrydses **VIC**-afkrydsningsfeltet samt **FAM**-, **ROX**- og **Cy5**-afkrydsningsfelterne.
3. Sørg for, at alle trin i analyseprocessen (se kapitlerne 7.6.7.1 Baseline-korrektion til 7.6.8.1 Udelukkelse af brønde, der indeholder ugyldige data) er gennemført for AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5-brøndgruppen.
4. Klik på **Tools** → **Reports...** i menulinjen i Data Analysis-vinduet for at åbne dialogboksen Report.

5. Sørg for, at mindst følgende indhold er valgt til rapportgenerering i den øverste venstre del af dialogboksen Report (se figur 13):



Figur 13: Dialogboksen Report

6. Vælg eller fravælg yderligere indhold i rapporten ved at sætte kryds i de respektive afkrydsningsfelter efter behov.
7. Klik på **File** → **Save As...** i menulinjen i dialogboksen Report for at åbne dialogboksen Save Report.
8. I dialogboksen Save Report skal du angive navnet og placeringen for den rapportfil, der skal genereres, og klikke på **Save**.

7.6.10.1 Manuel fortolkning af resultater

1. Åbn den rapportfil, der er genereret for AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5-brøndgruppen (se kapitel 7.6.10 Eksport af PCR-resultater til manuel fortolkning af resultater).
2. Se tabellen Quantification Data i rapporten (se figur 14). Tabellen består af 4 rækker for hver **Sample** – hver af dem for **Target** VZV, HSV-1 og HSV-2 og én til **Target** Internal Control.

Quantification Data

Well	Floor	Target	Content	Sample	Biological Set Name	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Well Note
A01	Cy5	HSV-2	NTC	NTC 102209011912	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	
B01	Cy5	HSV-2	Pos Ctrf	alpha Herpesvirus PC 102119012004	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	31.38	31.38	0.000	
B02	Cy5	HSV-2	Unkn	Sample 8 00000008	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	33.41	33.41	0.000	qualitative
C01	Cy5	HSV-2	Unkn	Sample 1 00000001	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
D01	Cy5	HSV-2	Unkn	Sample 2 00000002	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
E01	Cy5	HSV-2	Unkn	Sample 3 00000003	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
F01	Cy5	HSV-2	Unkn	Sample 4 00000004	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
H01	Cy5	HSV-2	Unkn	Sample 6 00000006	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
A01	FAM	VZV	NTC	NTC 102209011912	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	
B01	FAM	VZV	Pos Ctrf	alpha Herpesvirus PC 102119012004	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	30.07	30.07	0.000	
B02	FAM	VZV	Unkn	Sample 8 00000008	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
C01	FAM	VZV	Unkn	Sample 1 00000001	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	29.25	29.25	0.000	qualitative
D01	FAM	VZV	Unkn	Sample 2 00000002	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
E01	FAM	VZV	Unkn	Sample 3 00000003	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
F01	FAM	VZV	Unkn	Sample 4 00000004	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
H01	FAM	VZV	Unkn	Sample 6 00000006	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
A01	ROX	HSV-1	NTC	NTC 102209011912	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	
B01	ROX	HSV-1	Pos Ctrf	alpha Herpesvirus PC 102119012004	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	31.52	31.52	0.000	
B02	ROX	HSV-1	Unkn	Sample 8 00000008	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
C01	ROX	HSV-1	Unkn	Sample 1 00000001	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
D01	ROX	HSV-1	Unkn	Sample 2 00000002	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
E01	ROX	HSV-1	Unkn	Sample 3 00000003	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
F01	ROX	HSV-1	Unkn	Sample 4 00000004	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	32.16	32.16	0.000	qualitative
H01	ROX	HSV-1	Unkn	Sample 6 00000006	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	qualitative
A03	VIC	Internal Control	NTC	NTC 102209011912	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	24.91	24.91	0.000	
B02	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 8 00000008	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	25.30	25.30	0.000	qualitative
C01	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 1 00000001	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	25.34	25.34	0.000	qualitative
D01	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 2 00000002	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	25.45	25.45	0.000	qualitative
E01	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 3 00000003	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	25.27	25.27	0.000	qualitative
F01	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 4 00000004	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	25.38	25.38	0.000	qualitative
H01	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 6 00000006	AltoStar alpha Herpesvirus PCR Kit 1.5	25.40	25.40	0.000	qualitative

Figur 14: Rapport: Quantification Data

Kvalitative resultater vil blive markeret med udtrykket *qualitative* i kolonnen **Well Note** i tabellen Quantification Data.

- Identificér hver række med **Target** VZV, HSV-1 eller HSV-2 og termen *qualitative* i kolonnen **Well Note**.
- I disse rækker henvises til kolonnen **C_q** for resultatet af den pågældende **Sample**.
- Se tabel 9 af fortolkning af resultater.

Tabel 9: Fortolkning af resultat

VZV-, HSV-1- og HSV-2-målenes tærskelværdicyklus (C _q)	Fortolkning af resultat
1-45	VZV, HSV-1 eller HSV-2 specifik DNA påvist.
Ikke relevant	Ingen VZV, HSV-1 eller HSV-2 specifik DNA påvist. Prøven indeholder ikke påviselige mængder af VZV, HSV-1 eller HSV-2 specifik DNA.

8. Brug af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 med andre real-time-PCR-instrumenter end CFX96™ Deep Well Dx System

Ud over CFX96™ DW Dx er AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 blevet valideret med andre real-time-PCR-instrumenter (se kapitel 5.3.2.2 Real-time-PCR-instrumenter). De følgende kapitler 8.1 Materialer og udstyr påkrævet, men medfølger ikke, og 8.2 Procedure beskriver, hvordan man bruger AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 med disse instrumenter.

8.1 Materialer og udstyr påkrævet, men medfølger ikke

Følgende instrumenter og materialer er nødvendige:

- Generelle materialer og udstyr (se kapitel 7.5 Generelt materiale og udstyr)
- CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)
 - PCR-plader med 96 brønde og forseglingsfolie (se tabel 2 for detaljer)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
 - PCR-plader med 96 brønde og forseglingsfolie (se tabel 2 for detaljer)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
 - 0,1 ml striprør og låg [STRIP-rør 0,1 ml til Rotor-Gene® cyclere (LTF Labortechnik) eller tilsvarende]
- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR-system og ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
 - PCR-plader med 96 brønde og forseglingsfolie [MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate og MicroAmp™ Optical Adhesive Film (Applied Biosystems) eller tilsvarende]

BEMÆRK



Det anbefales ikke at anvende andre materialer eller udstyr end dem, der er angivet i denne brugsanvisning.

8.2 Procedure

8.2.1 Forberedelse af prøve

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 blev valideret ved hjælp af AltoStar® AM16 i kombination med AltoStar® Purification Kit 1.5.

Alternative systemer og kits til ekstraktion af nukleinsyre kan også være hensigtsmæssige. Brugeren skal validere, om proceduren for nukleinsyreekstraktion er egnet til brug med AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5.

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 skal anvendes sammen med en heterolog IC (AltoStar® Internal Control 1.5), som gør det muligt at kontrollere prøveforberedelsesproceduren (ekstraktion af nukleinsyre) og den efterfølgende PCR.

- Ved anvendelse af andre metoder til nukleinsyreekstraktion end AltoStar® AM16 i kombination med AltoStar® Purification Kit 1.5 skal IC'en tilsættes under lysisstrinnet i nukleinsyreekstraktionsproceduren.
- IC'en skal altid tilsættes til prøve-/lysisbufferblandingen.
- Den mængde IC, der skal tilsættes, afhænger altid og udelukkende af elueringsvolumenet. Den udgør 50 % af elueringsvolumenet. Hvis nukleinsyren f.eks. skal elueres i 60 µl elueringsbuffer eller vand, skal der tilsættes 30 µl IC pr. prøve til prøve-/lysisbufferblandingen.

ADVARSEL



Opbevaring af eluater under forkerte betingelser kan føre til nedbrydning af HSV-1-, HSV-2- og/eller VZV-målsekvenserne og kan forringe produktets ydeevne.

8.2.2 Opsætning af master-blanding

Alle komponenter af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 og prøver skal optøs helt, blandes (ved pipettering eller forsigtig hvirvling) og centrifugeres kortvarigt før brug. Master-blandingen opsættes i henhold til følgende pipetteringsskema:

Tabel 10: Pipetteringsskema (master-blandings-opsætning)

Antal reaktioner (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
Volumen master-blanding	20 µl	240 µl

ADVARSEL

Brug ikke andre mængder Master A og Master B til master-blanding-opsætning end dem, der er angivet i denne brugsanvisning, da dette kan forringe produktets ydeevne.

ADVARSEL

Manglende centrifugering af produktkomponenterne efter optøning kan forårsage kontaminering med reagensrester i lågene og kan forringe produktets ydeevne.

8.2.3 Reaktionsopsætning

1. Pipetter 20 µl af master-blandingen i hver påkrævet brønd af en passende optisk 96-brønnds PCR-plade eller et passende optisk reaktionsrør.
2. Tilsæt 10 µl af prøven (eluat fra nukleinsyreekstraktionen) eller 10 µl af kontrollerne (PC eller NTC).

Tabel 11: Pipetteringsplan (reaktionsopsætning)

Reaktionsopsætning	
Master-blanding	20 µl
Prøve eller kontrol	10 µl
Volumen i alt	30 µl

3. Sørg for, at der bruges mindst 1 PC og 1 NTC pr. kørsel.
4. Bland prøverne og kontrollerne grundigt med master-blandingen ved at pipettere op og ned.
5. Luk PCR-pladen med 96 brønde med en PCR Plate Sealing Foil og reaktionsrørene med passende låg (se kapitel 8.1 Materialer og udstyr påkrævet, men medfølger ikke).
6. Centrifuger PCR-pladen med 96 brønde i en centrifuge med en mikrotiterpladerotor i 30 sekunder ved ca. 1.000 x g (~ 3.000 rpm).

Efter afslutning af PCR-opsætningen er PCR-blandingen stabil ved stuetemperatur (maks. +30 °C) i 30 minutter.

ADVARSEL

Overskrid ikke opbevaringstiden for PCR-blandingen, da dette kan forringe produktets ydeevne.

ADVARSEL

Bland ikke prøver eller prøve-ID'er under PCR-opsætning eller overførsel til PCR-instrumentet. Dette kan føre til falsk positive eller falsk negative resultater på grund af forkert tildeling af prøverne.

8.2.4 PCR-kørsel

8.2.4.1 Programmering af real-time-PCR-instrumentet

For grundlæggende oplysninger om opsætningen og programmeringen af de forskellige real-time-PCR-instrumenter henvises til brugsanvisningen til det pågældende instrument.

Kontakt Altona Diagnostics' tekniske support for detaljerede programmeringsinstruktioner vedrørende brugen af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 på specifikke real-time-PCR-instrumenter (se kapitel 12. Teknisk support).

8.2.4.2 Kørselsindstillinger

Definer de følgende grundlæggende indstillinger:

Tabel 12: Kørselsindstillinger

Indstillinger	
Reaktionsvolumen	30 µl
Rampehastighed	Standard
Passiv reference*	Ingen

* Hvis relevant

Definer de følgende fluorescensdetektorer (farvestoffer):

Tabel 13: Fluorescensdetektorer

Mål	Detektornavn	Rapportør	Slukningsmiddel
HSV-1	HSV-1	ROX™	(Ingen)
HSV-2	HSV-2	Cy5	(Ingen)
VZV	VZV	FAM™	(Ingen)
Intern kontrol	Internal Control	JOE™	(Ingen)

Definér den følgende temperaturprofil og farvestofoptagelse:

Tabel 14: Temperaturprofil og farvestofoptagelse

	Stadie	Cyklus-gentagelser	Optagelse	Temperatur [°C]	Tid (min:s)
Denaturering	Hold	1	-	95	02:00
Amplifikation	Cyklus	45	-	95	00:15
			Ja	58	00:45
			-	72	00:15

ADVARSEL



Brug ikke andre cyklusbetingelser end dem, der er angivet i denne brugsanvisning, da dette kan forringe produktets ydeevne.

8.2.5 Dataanalyse

For grundlæggende oplysninger om dataanalyse på specifikke real-time-PCR-instrumenter henvises til brugsanvisningen til det pågældende instrument.

For detaljerede instruktioner vedrørende analyse af data genereret med AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 på forskellige real-time-PCR-instrumenter skal du kontakte altona Diagnostics' tekniske support (se kapitel 12. Teknisk support).

Kriterierne for validitet af diagnostiske PCR-kørsler og fortolkning af resultater uanset real-time-PCR-instrumentet er beskrevet i kapitel 7.6.8.2 Validitet af en diagnostisk PCR-kørsel og 7.6.8.3 Validitet af resultater for en prøve, kapitel 7.6.10.1 Manuel fortolkning af resultater og tabel 9.

ADVARSEL



Brug ikke andre kontrolindstillinger til dataanalyse end dem, der er angivet i denne brugsanvisning, da dette kan medføre ukorrekte resultater af IVD-undersøgelser.

ADVARSEL



Som ved enhver diagnostisk test skal resultaterne fortolkes under hensyntagen til alle kliniske og laboratoriemæssige resultater.

9. Ydelsesdata

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5's ydeevne blev evalueret ved hjælp af HSV-1, HSV-2 og VZV kommercielt tilgængeligt materiale, som blev spiked i Universal Transport Medium™ (UTM®) som prøvematrix.

9.1 Kutane og mucokutane svaberprøver

9.1.1 Analytisk følsomhed

Til bestemmelse af detektionsgrænsen (limit of detection, LoD) blev der fremstillet en fortyndingsserie af kommercielt tilgængeligt materiale af HSV-1, HSV-2 og VZV i UTM® fra 5,00E+02 til 2,50E+00 kopier/ml.

Hver fortynding blev testet i 8 gentagelser i 3 forskellige kørsler (i alt n = 24 pr. fortynding) ved hjælp af kombinationer af:

- 3 AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 partier
- 3 AltoStar® Purification Kit 1.5 partier
- 3 AltoStar® Internal Control 1.5 partier
- 3 AltoStar® AM16-instrumenter
- 3 CFX96™ DW Dx-instrumenter

Data fra alle kørsler blev kombineret, og der blev foretaget en probit-analyse for at bestemme 95 % LoD-værdien.

Tabel 15: PCR-resultater, der er anvendt til beregning af den analytiske følsomhed for HSV-1

Koncentration [kopier/ml]	N [total]	N [positiv]	Træfprocent [%]
5,00E+02	24	24	100
3,50E+02	24	24	100
2,00E+02	24	24	100
1,00E+02	24	24	100
5,00E+01	24	24	100
2,00E+01	24	22	92
1,00E+01	24	16	67
5,00E+00	24	14	58
2,50E+00	24	5	21

LoD af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 for detektionen af HSV-1 i UTM® er 26 kopier/ml (95 % konfidensinterval: 17-53 kopier/ml).

Tabel 16: PCR-resultater, der er anvendt til beregning af den analytiske følsomhed for HSV-2

Koncentration [kopier/ml]	N [total]	N [positiv]	Træfprocent [%]
5,00E+02	24	24	100
3,50E+02	24	24	100
2,00E+02	24	24	100
1,00E+02	24	24	100
5,00E+01	24	22	92
2,00E+01	24	22	92
1,00E+01	24	19	79
5,00E+00	24	13	54
2,50E+00	24	7	29

LoD af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 for detektionen af HSV-2 i UTM® er 37 kopier/ml (95 % konfidensinterval: 23-85 kopier/ml).

Tabel 17: PCR-resultater, der er anvendt til beregning af den analytiske følsomhed for VZV

Koncentration [kopier/ml]	N [total]	N [positiv]	Træfprocent [%]
5,00E+02	24	24	100
3,50E+02	24	24	100
2,00E+02	24	24	100
1,00E+02	24	24	100
5,00E+01	24	20	83
2,00E+01	24	14	58
1,00E+01	24	6	25
5,00E+00	24	7	29
2,50E+00	24	2	8

LoD af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 for detektionen af VZV i UTM® er 91 kopier/ml (95 % konfidensinterval: 59-172 kopier/ml).

9.1.2 Analytisk specificitet

Analysens specificitet af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 sikres ved en grundig udvælgelse af oligonukleotiderne (primere og prober). Oligonukleotiderne blev kontrolleret ved hjælp af en sekvenssammenligningsanalyse i forhold til offentligt tilgængelige sekvenser for at sikre, at alle relevante HSV-1-, HSV-2- og VZV-genotyper vil blive påvist.

Til verifikation af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5's analytiske specificitet blev følgende forsøg udført (se kapitlerne 9.1.2.1 Negative prøver til 9.1.2.3 Krydsreaktivitet).

9.1.2.1 Negative prøver

34 HSV-1, HSV-2 og VZV negative prøver af kutane/mucokutane svaberprøver fra individuelle donorer blev testet med AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5. Alle prøver (34 ud af 34) blev testet negative for HSV-1, HSV-2 og VZV specifikke DNA og positive for IC'en. AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5's analytiske specificitet for prøver fra kutane/mucokutane svaberprøver er $\geq 95\%$.

9.1.2.2 Interfererende stoffer

For at evaluere indflydelsen af potentielt interfererende endogene og eksogene stoffer på AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5's ydeevne blev udvalgte stoffer spiked i UTM®. Disse prøver indeholdt HSV-1, HSV-2 og VZV i en koncentration på henholdsvis 3 x LoD (78 kopier/ml for HSV-1, 111 kopier/ml for HSV-2 og 273 kopier/ml for VZV), 5,00E+03 kopier/ml (for HSV-1, HSV-2 og VZV) og ingen HSV-1, HSV-2 og VZV.

Resultaterne for prøver, der indeholder potentielt interfererende stoffer, blev sammenlignet med resultaterne for UTM®, der ikke indeholdt nogen spiked interferent. Hver prøve blev behandlet i 3 gentagelser.

Der blev ikke observeret nogen interferens for prøver, der indeholdt forhøjede niveauer af:

- Endogene stoffer
 - Humant genomisk DNA
 - Fuldblod
- Eksogene stoffer
 - Aciclovir (Zovirax®)
 - Azithromycin
 - Mupirocin
 - Nystatin
 - Pyrimethamin (Daraprim)
 - Hudlotion

ADVARSEL



Tilstedeværelsen af PCR-hæmmere kan forårsage falsk negative eller ugyldige resultater.

9.1.2.3 Krydsreaktivitet

Den analytiske specificitet af den AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 med hensyn til krydsreaktivitet med andre patogener end HSV-1, HSV-2 og VZV blev evalueret ved test:

- Patogener, der forårsager lignende symptomer som en infektion med HSV-1, HSV-2 og VZV
- Patogener, der sandsynligvis vil være til stede hos patienter, der lider af en HSV-1, HSV-2 og VZV infektion
- Patogener, der potentielt kan findes i prøver af kutane/mucokutane svaberprøver

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 krydsreagerede ikke med nogen af følgende patogener:

- *Candida albicans*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Chlamydia trachomatis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Mycoplasma genitalium*
- *Trichomonas vaginalis*

Desuden blev HSV-1, HSV-2 og VZV testet. AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 genererede ikke falske positive signaler, hverken i den HSV-1 specifikke detektionskanal (ROX™) ved test af HSV-2 og VZV eller i den HSV-2 specifikke detektionskanal (Cy5) ved test af HSV-1 og VZV. Desuden blev der ikke påvist falske positive signaler i den VZV specifikke detektionskanal (FAM™) ved test af HSV-1 og HSV-2.

ADVARSEL



Hvis prøven indeholder andre patogener end HSV-1, HSV-2 og/eller VZV, kan der opstå konkurrence med målamplifikationen eller krydsreaktivitet, hvilket kan medføre ukorrekte IVD-undersøgelsesresultater.

9.1.3 Præcision

Præcisionen af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 blev evalueret ved hjælp af et panel bestående af:

- 1 HSV-1, HSV-2 og VZV højpositiv (5,00E+03 kopier/ml) UTM® prøve
- 1 HSV-1 lav positiv [78 kopier/ml (3 x LoD)] UTM® prøve
- 1 HSV-2 lav positiv [111 kopier/ml (3 x LoD)] UTM® prøve
- 1 VZV lav positiv [273 kopier/ml (3 x LoD)] UTM® prøve
- 1 HSV-1, HSV-2 og VZV negativ UTM® prøve

Hvert panelmedlem blev testet i mindst 4 gentagelser pr. kørsel.

Der blev udført 5 kørsler på 5 forskellige dage med kombinationer af:

- 3 AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 partier
- 3 AltoStar® Purification Kit 1.5 partier
- 3 AltoStar® Internal Control 1.5 partier
- 3 AltoStar® AM16-instrumenter
- 3 CFX96™ DW Dx-instrumenter

Reperterbarhed (variabilitet inden for processerne), variabilitet mellem partierne og reproducerbarhed (total variabilitet) blev bestemt på grundlag af:

- Tærskelcyklusværdier (C_q^*) for de HSV-1, HSV-2 og VZV højpositive prøver (se tabel 18, 19 og 20)
- Tærskelcyklusværdier (C_q^*) for IC'en i de HSV-1, HSV-2 og VZV negative prøver (se tabel 21)

* Bemærk, at det valgte udtryk C_q svarer til betegnelsen C_t , som kan bruges af andre cykler end CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad).

Tabel 18: Præcisionsdata (CV % baseret på C_q -værdier) for HSV-1 højpositive UTM® prøver

	HSV-1 højpositiv prøve [CV % baseret på C_q -værdier]
Variabilitet inden for processerne	0,15-1,29
Variabilitet mellem partierne	0,96
Total variabilitet	1,33

Alle HSV-1 prøver, der blev testet ved 3 x LoD (lavt positive prøver), blev påvist positive.

Tabel 19: Præcisionsdata (CV % baseret på C_q -værdier) for HSV-2 højpositive UTM® prøver

	HSV-2 højpositiv prøve [CV % baseret på C_q -værdier]
Variabilitet inden for processerne	0,08-0,95
Variabilitet mellem partierne	0,52
Total variabilitet	1,14

Alle HSV-2 prøver, der blev testet ved 3 x LoD (lavt positive prøver), blev påvist positive.

Tabel 20: Præcisionsdata (CV % baseret på C_q -værdier) for VZV højpositive UTM® prøver

	VZV højpositiv prøve [CV % baseret på C_q -værdier]
Variabilitet inden for processerne	0,21-1,26
Variabilitet mellem partierne	0,52
Total variabilitet	2,17

Alle VZV prøver, der blev testet ved 3 x LoD (lavt positive prøver), blev påvist positive.

Tabel 21: Præcisionsdata (CV % baseret på C_q -værdier) for IC'en i HSV-1, HSV-2 og VZV negative UTM® prøver

	IC
Variabilitet inden for processerne	0,06-0,64
Variabilitet mellem partierne	0,77
Total variabilitet	2,42

9.1.4 Samlet fejlrate

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5's robusthed blev vurderet ved at teste 31 HSV-1, HSV-2 såvel som VZV negative kutane/mucokutane svaberprøver fra individuelle donorer spiked med HSV-1, HSV-2 og VZV til en slutkoncentration på 3 x LoD (henholdsvis 78 kopier/ml, 111 kopier/ml og 273 kopier/ml). Alle prøver (31 ud af 31) blev testet positive i den HSV-1, HSV-2 og VZV specifikke fluorescensdetektionskanal (henholdsvis ROX™, Cy5 og FAM™).

9.1.5 Overførsel

Overførsel er for det meste en arbejdsgangsaafhængig risiko og uafhængig af den anvendte PCR-analyse. Til AltoStar® Workflow blev AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5 brugt som en eksemplarisk model. Potentiel krydskontaminering som følge af overførsel fra højpositive prøver blev evalueret ved at teste skiftevis parvovirus B19-prøver med høj positivitet (1,00E+07 IU/ml) og negative prøver (n = 44 hver pr. kørsel; 2 kørsler) med AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. Der blev ikke observeret nogen overførsel, dvs. at alle parvovirus B19 negative prøver blev testet negative.

9.1.6 Klinisk ydelse

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 blev evalueret i en sammenlignende undersøgelse med det CE-mærkede HSV1 HSV2 VZV R-gene® real-time detection and quantification kit (bioMérieux) Retrospektivt blev 134 kutane/mucokutane svaberprøver testet parallelt med HSV1 HSV2 VZV R-gene® real-time detection and quantification kit (bioMérieux) og AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5.

HSV1 HSV2 VZV R-gene® real-time detection and quantification kit (bioMérieux) blev anvendt i kombination med QIAamp® DNA Blood Mini Kit (QIAGEN).

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 blev anvendt i kombination med AltoStar® Purification Kit 1.5 og AltoStar® Internal Control 1.5 på AltoStar® AM16 og CFX96™ DW Dx.

Til den kvalitative analyse blev alle prøver med et ugyldigt resultat for en eller begge analyser udelukket.

Resultaterne for de resterende 105 prøver er vist i tabel 22-24.

Tabel 22: Resultater af evalueringen af den diagnostiske følsomhed og specificitet for HSV-1 i humane kutane/mucokutane svaberprøver

		HSV1 HSV2 VZV R-gene® real-time detection and quantification kit (bioMérieux)	
		POSITIV	NEGATIV
AltoStar® <i>alpha</i> Herpesvirus PCR Kit 1.5 (mål: HSV-1)	POSITIV	26	1
	NEGATIV	0	78

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5's diagnostiske følsomhed og specificitet for HSV-1 sammenlignet med HSV1 HSV2 VZV R-gene® real-time detection and quantification kit (bioMérieux) var henholdsvis 100 % og 99 %.

Tabel 23: Resultater af evalueringen af den diagnostiske følsomhed og specificitet for HSV-2 i humane kutane/mucokutane svaberprøver

		HSV1 HSV2 VZV R-gene® real-time detection and quantification kit (bioMérieux)	
		POSITIV	NEGATIV
AltoStar® <i>alpha</i> Herpesvirus PCR Kit 1.5 (mål: HSV-2)	POSITIV	17	1
	NEGATIV	0	87

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5's diagnostiske følsomhed og specificitet for HSV-2 sammenlignet med HSV1 HSV2 VZV R-gene® real-time detection and quantification kit (bioMérieux) var henholdsvis 100 % og 99 %.

Tablet 24: Resultater af evalueringen af den diagnostiske følsomhed og specificitet for VZV i humane kutane/mucokutane svaberprøver

		HSV1 HSV2 VZV R-gene® real-time detection and quantification kit (bioMérieux)	
		POSITIV	NEGATIV
AltoStar® <i>alpha</i> Herpesvirus PCR Kit 1.5 (mål: VZV)	POSITIV	43	0
	NEGATIV	1	61

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5's diagnostiske følsomhed for VZV sammenlignet med HSV1 HSV2 VZV R-gene® real-time detection and quantification kit (bioMérieux) var henholdsvis 98 % og 100 %.

10. Bortskaffelse

Bortskaf farligt og biologisk affald i overensstemmelse med lokale og nationale bestemmelser. Rester af produktkomponenter og affald må ikke komme i spildevand, vandløb eller i jorden.

ADVARSEL



Behandl altid prøver som smittefarligt og (bio-)farligt materiale i overensstemmelse med sikkerheds- og laboratorieprocedurer. Ved spild af prøvemateriale skal der straks anvendes et egnet desinfektionsmiddel. Håndter kontaminerede materialer som biofarlige.

ADVARSEL



Bortskaffelse af farligt og biologisk affald skal være i overensstemmelse med lokale og nationale bestemmelser for at undgå miljøforurening.

BEMÆRK



PCR-pladen skal bortskaffes i forsejlet tilstand, da PCR Plate Sealing Foil ikke kan fjernes.

11. Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med det af altona Diagnostics GmbH EN ISO 13485 certificerede kvalitetsstyringssystem testes hvert parti AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 i forhold til forudbestemte specifikationer for at sikre ensartet produktkvalitet.

12. Teknisk support

For kundesupport, kontakt altona Diagnostics' tekniske support:

e-mail: support@altona-diagnostics.com

telefon: +49-(0)40-5480676-0

BEMÆRK



Alle alvorlige hændelser, der er sket i relation til produktet, bør rapporteres til altona Diagnostics og dit lands kompetente myndighed.

13. Litteratur

- [1] Fields Virology, 6th Edition Edited by David M. Knipe and Peter M. Howley. Philadelphia, PA, USA. Lippincott Williams & Wilkins, 2013; Volume 2.
- [2] Whitley RJ. Herpesviruses. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 68 Herpesviruses.
- [3] Whitley et al.; Herpes Simplex Viruses.; Clinical Infectious Diseases 1998; 26:541-55.
- [4] World Health Organization: WHO. Herpes Simplex Virus. Tilgængelig på: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>.
- [5] Nicoll et al.; The molecular basis of herpes simplex virus latency.; FEMS Microbiol Rev. 2012 May; 36(3):684-705.
- [6] Taylor et al.; Herpes simplex virus.; Frontiers in Bioscience 7; 2002; d752-764.
- [7] Mueller et al.; Varicella Zoster Virus Infection: Clinical Features, Molecular Pathogenesis of Disease, and Latency; NIH 2008.

14. Varemærker og ansvarsfraskrivelser

4s3™ (4titude); AltoStar® (altona Diagnostics); ABI Prism®, QuantStudio™ (Applied Biosystems); R-gene® (bioMérieux); CFX96™, CFX Manager™ (Bio-Rad); Universal Transport Medium™, UTM® (Copan); Zovirax® (GlaxoSmithKline); Rotor-Gene®, QIAamp® (QIAGEN); LOINC® (Regenstrief Institute, Inc.); FAM™, JOE™, MicroAmp™, ROX™, VIC™ (Thermo Fisher Scientific).

Registrerede navne, varemærker osv., der anvendes i dette dokument, selv om de ikke specifikt er markeret som sådanne, skal ikke betragtes som værende ubeskyttede i henhold til loven.
















AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 er et CE-mærket diagnosesæt i henhold til det europæiske direktiv 98/79/EF om *in vitro*-diagnostik.




Produktet er ikke godkendt af Health Canada og er ikke cleared eller godkendt af FDA.

Ikke tilgængeligt i alle lande.

© 2021 altona Diagnostics GmbH; alle rettigheder forbeholdes.

15. Symboler

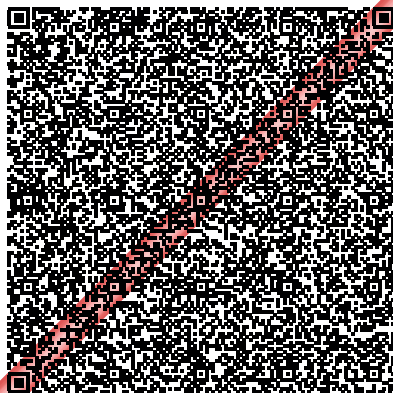
Symbol	Forklaring
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinsk udstyr
	Global Trade Item Number
	Batchkode
	Indhold
	Hættefarve
	Katalognummer
	Nummer
	Komponent
	Se brugsanvisning
	Indeholder tilstrækkeligt til "n" test/reaktioner (rxns)
	Temperaturgrænse
	Sidste anvendelsesdato
	Producent
	Advarsel
	Materialenummer

Symbol	Forklaring
	Version
	Bemærk
	Indeholder materiale af animalsk oprindelse

16. Analyseprotokol for AltoStar® Connect-softwaren og oplysninger om LIMS-integration

2D-stregkoden i figur 15 skal bruges til at installere den seneste analyseprotokol til brug af AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5 på AltoStar® AM16. Stregkoden kan kun scannes i printet form. Du kan scanne stregkoden direkte fra manualen eller udskrive den på et separat ark. Bemærk, at størrelsen af printet påvirker stregkodens scanbarhed. Sørg for at skalere størrelsen til 100 %. Ved scanning skal du rette scanneren mod den røde linje på stregkoden. For nærmere oplysninger om administration af analyseprotokoller henvises til det respektive kapitel i brugsanvisningen til AltoStar® Connect-softwaren. For oplysninger om LIMS-integration, se tabel 26.

AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5



Protocol Version:

Checksum: 3307749B902E489CEC53599E911E6FD093008186

1

Figur 15: Stregkode til analyseprotokol for AltoStar® *alpha* Herpesvirus PCR Kit 1.5

Tabel 25: Ændringslog til analyseprotokollen

Protokolversion	Udgivelsesopdateringer
1	Oprindelig version

Tabel 26: Oplysninger til LIMS-integration

Anvendelse	Data
Testordre (LIMS → AltoStar® AM16)	AltoStar <i>alpha</i> Herpesvirus PCR Kit 1.5
Testresultat (CFX96™ DW Dx → LIMS) enhed	N/A
Testresultat (CFX96™ DW Dx → LIMS) kanal 1	VZV
Testresultat (CFX96™ DW Dx → LIMS) kanal 2	Internal Control
Testresultat (CFX96™ DW Dx → LIMS) kanal 3	HSV-1
Testresultat (CFX96™ DW Dx → LIMS) kanal 4	HSV-2

For LOINC® (Logical Observation Identifiers Names and Codes) henvises til Altona Diagnostics GmbH's websted (www.altona-diagnostics.com) eller kontakt Altona Diagnostics' tekniske support (se kapitel 12. Teknisk support).

17. Revisionshistorik

Tabel 27: Revisionshistorik

Identifikator	Udstedelses- dato (måned/år)	Ændringer
MAN-AS0081540- DA-S01	10/2021	Første udgivelse

siden er efterladt blank med vilje

always a drop ahead.

altona Diagnostics GmbH
Mörkenstr. 12
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0
fax +49 40 548 0676 10
e-mail info@altona-diagnostics.com

www.altona-diagnostics.com

