

cobas[®] HSV 1 and 2 Test

cobas[®] 4800 Sisteminde kullanım için

In vitro diagnostik kullanım içindir



cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235782190 P/N: 05235804190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 1	240 Tests 960 Tests	P/N: 06768253190 P/N: 06768270190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Internal Control Kit 1	20 Runs	P/N: 06768318190
cobas[®] 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit	80 Tests	P/N: 06768199190
cobas[®] 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit	10 Runs	P/N: 06768296190

İÇİNDEKİLER

Kullanım amacı

Test özeti ve açıklaması / prosedürün prensipleri

Temel bilgiler: HSV-1 ve HSV-2 taraması	4
Testin açıklaması	5
Prosedür prensipleri.....	5
Numunenin hazırlanması	5
PCR amplifikasyonu ve TaqMan® saptaması	5
Selektif Amplifikasyon.....	5

Materyaller, reaktifler ve numuneler

Sağlanan malzemeler ve reaktifler.....	6
Reaktif saklama ve kullanma	13
Diğer gerekli materyaller	13
İsteğe bağlı materyal.....	13
Gereken ancak sağlanmayan cihaz ve yazılımlar	14

Önlemler ve taşıma gereklilikleri

Uyarılar ve önlemler	14
İyi laboratuvar uygulamaları.....	14
Kontaminasyon	15
Bütünlük	15
İmha	15
Dökülme ve temizleme	15
Numune alma, taşıma ve saklama.....	16
Numunelerin toplanması	16
Numunelerin taşınması, saklanması ve stabilitesi	16

Kullanım talimatları

Testin çalıştırılması	16
İş akışı	16
Test prosedürü.....	17

Sonuçlar

Kalite kontrol ve sonuçların geçerliliği.....	21
Pozitif kontrol	21
Negatif kontrol.....	21
Internal kontrol	21
Sonuçların yorumlanması	21
Sonuç işaretlerinin listesi.....	22
Prosedür ile ilgili sınırlamalar	23

Klinik olmayan performans değerlendirmesi.....	24
Analitik hassasiyet	24
HSV-1 ve HSV-2 suşlarının saptanması	24
Kesinlik	25
Kompetitif inhibisyon.....	26
Analitik özgülük	26
İnterferans	27
Klinik numuneler kullanılarak klinik performans.....	29
Ek bilgiler.....	31
Temel test özellikleri	31
Semboller	32
Teknik destek	33
Üretici ve ithalatçı	33
Ticari markalar ve patentler.....	33
Telif hakkı.....	33
Bibliyografya	34
Belge revizyonu.....	35

Kullanım amacı

cobas® 4800 Sisteminde **cobas®** HSV 1 and 2 Test, klinisyen tarafından alınan semptomatik erkek ve kadın hastaların anogenital lezyon numunelerinde Herpes simplex virüsü 1 ve 2 (HSV-1 ve HSV-2) DNA'sının doğrudan saptanması ve tipinin belirlemesi için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) kullanan otomatik, kalitatif ve *in vitro* bir tanılama testidir. **cobas®** HSV 1 and 2 Test, semptomatik hastalarda anogenital HSV-1 ve HSV-2 enfeksiyonlarının tanısına yardımcı olmak için tasarlanmıştır.

Test özeti ve açıklaması / prosedürün prensipleri

Temel bilgiler: HSV-1 ve HSV-2 taraması

Genital herpes, Herpesviridae ailesinin her yerde bulunan çift zincirli nörotropik DNA virüsleri olan HSV-1 ve HSV-2'nin neden olduğu cinsel yolla bulaşan bir hastalıktır (CYBH).¹ Salgılar yoluyla primer enfeksiyonun ardından virüs ömür boyu devam eder. Virüs uzun süre latent durumda kalabilir veya tekrarlayan reaktif semptomatik hastalık ataklarına neden olabilir; nökslerin sayısı yıllar içinde azalma eğilimindedir. Genital herpeslerin çoğuna HSV-2 neden olur. HSV-1 genital herpesse neden olabilir, ancak daha yaygın olarak ağız ve dudak enfeksiyonlarına neden olur. Genital herpesin bulaşması genellikle enfeksiyonlarının farkında olmayan veya asemptomatik enfeksiyonu olan bireylerden kaynaklanır.² Doğum öncesinde veya doğum sırasında HSV'nin yenidoğana bulaşması ciddi hastalıklara ve hatta ölüme yol açabilir.

Genital herpes enfeksiyonu Amerika Birleşik Devletleri'nde yaygın görülür, hamile kadınlarda HSV-2 seroprevalansının %30'a kadar çıktığı ve HIV ile enfekte bireyler ve ticari seks işçileri gibi yüksek riskli gruplarda bu oranın %50'den fazla olabileceği görülmüştür.² Yetişkinlerde %80'e varan HSV-2 seroprevalansı gözlenmiştir³; seroprevalans, kadınlarda erkeklere kıyasla iki kata kadar daha yüksektir ve yaşla birlikte artar.^{4,5}

Genital herpes ile ilişkili belirtiler ve semptomlar farklılık gösterebilir ve enfekte bireylerin önemli bir kısmında⁶ enfeksiyon asemptomatik kalmakta veya teşhis edilmemektedir. Tipik olarak, cinsel temastan 4 ila 7 gün sonra, lokal ağrı veya karıncalanma meydana gelir ve bunu dış genitelyada iki taraflı eritemli papül ve vezikül kümeleri izler²; lezyonlar perianal bölgede de ortaya çıkabilir. Ateş, baş ağrısı, halsizlik ve inguinal lenfadenopati aynı anda mevcut olabilir. HSV-1 ile primer enfeksiyon, klinik kriterlere dayanarak primer HSV-2 enfeksiyonundan ayırt edilemez. Semptomatik HSV-2 enfeksiyonu olan kişilerin yaklaşık %70 ila %90'ında ve semptomatik genital HSV-1 enfeksiyonu olan kişilerin yaklaşık %20 ila %50'sinde ilk yıl içinde nöks görülür.⁷⁻⁹ Bu nedenle enfeksiyonun kesin teşhisi ve virüsün tipinin belirlenmesi, tedavinin başlatılması ve hastaların daha fazla yönetimi için önemlidir.¹⁰

Genital herpes tanısı, anogenital lezyonlardan alınan bir sürüntü numunesinin kültür ve ardından tipe özgü immüno Floresan kullanılarak test edilmesiyle veya moleküler tekniklerle konulabilir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) temelli testler, kültüre kıyasla daha yüksek hassasiyet ile daha kısa sürede test sonucunu birleştirir.^{11, 12} Antikorları saptamak için yapılan testler latent HSV enfeksiyonlarının tanısı için kullanılır. Enfekte olan bireylere hızlı bir şekilde antiviral tedavi uygulanması, HSV'nin bulaşmasını ve HSV enfeksiyonundan kaynaklanan komplikasyonları en aza indirmeye yardımcı olacaktır.

cobas® HSV 1 and 2 Test, COPAN MSwab Collection, Transport and Preservation kit ile alınan anogenital lezyon sürüntü numunelerini işler. Bu primer numuneler **cobas®** 4800 Sistemine yüklenir ve nükleik asit ekstraksiyonu ve PCR reaksiyonu kurulumu otomatik bir işlemle gerçekleştirilir. Takip eden gerçek zamanlı PCR işlemi, varsa, numunedeki HSV-1 ve HSV-2 spesifik DNA hedefini saptar ve tipler. Test, aynı çalışmada karışık seri şeklinde **cobas®** Cdiff ve **cobas®** MRSA/SA testleri ile çalıştırılabilir. Her üç test de aynı otomatik numune ekstraksiyon işleminin yanı sıra amplifikasyon ve saptama için PCR profilini paylaşır.

Testin açıklaması

cobas® HSV 1 and 2 Test, iki ana işlem içerir: (1) Anogenital lezyon numunelerinden nükleik asitleri ekstrakte etmek için otomatik numune hazırlama; (2) HSV-1 ve HSV-2 spesifik primerleri kullanılarak hedef DNA dizilerinin eş zamanlı PCR amplifikasyonu ve bölünmüş floresan etiketli HSV-1 ve HSV-2 spesifik oligonükleotid saptama problemlerinin gerçek zamanlı saptaması. Bağlantısız randomize DNA dizisini içeren bir Internal Control, otomatik numune hazırlamadan önce tüm numuneler eklenip amplifiye edilir ve bütün işlemi görüntülemek için her bir numune ile eş zamanlı olarak saptanır.

Prosedür prensipleri

Numunenin hazırlanması

cobas® HSV 1 and 2 Test için numunenin hazırlanması **cobas®** x 480 cihazı kullanımı ile otomatik hale getirilir. Anogenital lezyon numunelerindeki virüsler kaotropik ajan, proteinaz K ve SDS reaktifleri ile lizlenir. Eklenen Internal Control DNA'sı ile birlikte salgılanan nükleik asitler manyetik cam partiküllerle bağlanır. Yıkılır ve daha sonra küçük hacimli bir tampon içinde elüte edilirler. Cihaz daha sonra elüte edilen materyalden bir alikot alır ve aktive edilmiş bir Master Mix ile PCR reaksiyonunu ayarlar.

PCR amplifikasyonu ve TaqMan® saptaması

PCR döngüsü adımları ve hedef sinyalin saptanması **cobas®** z 480 analizöründe gerçekleşir. Master Mix reaktifi beş hedef için primer çiftleri ve problemler içerir: HSV-1'in DNA polimeraz bölgesi B ve Timidin Kinaz bölgesi C; HSV-2'nin glikoprotein B 3' uç bölgesi ve Timidin Kinaz bölgesi C ve Internal Control. HSV-1 ve HSV-2 için çift hedefli tasarımı, testin sağlamlığını artırır. Hedeflerin nükleik asit dizileri varsa, karşılık gelen primerlerle amplifikasyon, PCR ürünlerinin (amplikonlar) üretilmesiyle sonuçlanacak şekilde termotabil DNA polimeraz yoluyla gerçekleştirilir. Bu ürünler, bir floresan boya ve bir söndürücü içeren spesifik TaqMan problemleri ile saptanır. Normalde söndürücü, boyanın floresanını baskılar. Bununla birlikte PCR ürünü mevcutsa, prob ürüne hibridize olur ve polimerazın 5'-ila 3'-nükleaz aktivitesi ile klevajlanır. Bu reaksiyon, boyadan floresan yayılmasına izin verir ve sinyal, **cobas®** z 480 analizörü tarafından her PCR döngüsünde gerçek zamanlı olarak kaydedilir. Sinyal, **cobas®** 4800 System Software tarafından yorumlanır ve nihai sonuçlar olarak raporlanır.

Selektif Amplifikasyon

Numuneden hedef nükleik asidin selektif amplifikasyonu, AmpErase (urasil-N-glikozilaz) enzimi ve deoksiüridin trifosfat (dUTP) kullanımı ile **cobas®** HSV 1 and 2 Test kapsamında elde edilir. AmpErase enzimi, deoksitimidin içeren DNA zincirlerini değil deoksiüridin¹³ içeren DNA zincirlerini tanır ve bunların yıkımını katalize eder. Deoksiüridin doğal oluşumlu DNA'da yoktur ancak Master Mix reaktifinde dNTP'lerden biri olarak timidin trifosfatın yerine deoksiüridin trifosfat kullanıldığı için amplikon DNA'da her zaman mevcuttur; bu nedenle sadece amplikon, deoksiüridin içerir. Deoksiüridin, kontamine edici amplikonu, hedef DNA'nın amplifiye edilmesi öncesinde AmpErase enzimiyle yıkılmaya maruz bırakır. Master Mix reaktifinde yer alan AmpErase enzimi, C1-konumunda deoksiriboz zincirini açarak deoksiüridin kalıntılarında deoksiüridin içeren DNA'nın bölünmesini katalizler. Master Mix'in alkalın pH seviyesinde birinci ısıl döngü adımı ısıtıldığında, amplikon DNA zinciri deoksiüridin konumunda kırılır, böylece DNA amplifiye edilemez duruma gelir. AmpErase enzimi, 55°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda, yani termal döngü aşamalarının tümünde inaktiftir ve böylece hedef amplikonu yıkmaz. **cobas®** HSV 1 and 2 Test'in PCR başına en az 1000 deoksiüridin içeren HSV 1 ve 2 amplikonu kopyasını inaktive ettiği gösterilmiştir.

Materyaller, reaktifler ve numuneler

Sağlanan malzemeler ve reaktifler

Kit/Kasetler	Bileşenler ve reaktif içerikleri	Test başına kullanılan miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 240 test (P/N: 05235782190)	MGP (cobas® 4800 System Magnetic Glass Particles) Manyetik cam partiküller %93 izopropanol**	10 × 4,5 mL	 TEHLİKE H225: Kolay alevlenir sıvı ve buhar. H319: Ciddi göz tahrişine yol açar. H336: Rehavete veya baş dönmesine yol açabilir. P210: Isıdan/kıvılcımdan/alevden/sıcak yüzeylerden uzak tutun. Sigara içilmez. P233: Kabı sıkıca kapalı tutun. P261: Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumaktan kaçının. P280: Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın. P303 + P361 + P353: DERİ (veya saç) İLE TEMAS HALİNDE İSE: Kirlenmiş tüm giysilerinizi hemen kaldırın/çıkarın. Cildinizi su ile durulayın. P370 + P378: Yangın durumunda: Söndürme için kuru kum, kuru kimyasal veya alkole dirençli köpük kullanın. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (cobas® 4800 System Elution Buffer) Tris tamponu %0,09 sodyum azit	10 × 18 mL	Uygulanamaz

Kit/Kasetler	Bileşenler ve reaktif içerikleri	Test başına kullanılan miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 960 test (P/N: 05235804190)	MGP (cobas® 4800 System Magnetic Glass Particles) Manyetik cam partiküller %93 izopropanol**	10 × 13,5 mL	 TEHLİKE H225: Kolay alevlenir sıvı ve buhar. H319: Ciddi göz tahrişine yol açar. H336: Rehavete veya baş dönmesine yol açabilir. P210: Isıdan/kıvılcımdan/alevden/sıcak yüzeylerden uzak tutun. Sigara içilmez. P233: Kabı sıkıca kapalı tutun. P261: Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumaktan kaçının. P280: Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın. P303 + P361 + P353: DERİ (veya saç) İLE TEMAS HALİNDE İSE: Kirlenmiş tüm giysilerinizi hemen kaldırın/çıkarın. Cildinizi su ile durulayın. P370 + P378: Yangın durumunda: Söndürme için kuru kum, kuru kimyasal veya alkole dirençli köpük kullanın. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (cobas® 4800 System Elution Buffer) Tris tamponu %0,09 sodyum azit	10 × 18 mL	Uygulanamaz

Kit/Kasetler	Bileşenler ve reaktif içerikleri	Test başına kullanılan miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 test (P/N: 06768253190)	LYS-1 (cobas® 4800 System Lysis Buffer 1) Sodyum sitrat %5 polidokanol** %42,6 guanidinyum tiyosiyanat** Ditiyotireitol**	10 × 10 mL	 TEHLİKE H302: Yutulması halinde zararlıdır. H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar. H411: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, toksik etki. EUH032: Asitlerle temasında çok toksik gaz çıkarır. EUH071: Solunum yolu için aşındırıcıdır. P273: Çevreye verilmesinden kaçının. P280: Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın. P303 + P361 + P353: DERİ (veya saç) İLE TEMAS HALİNDE İSE: Kirlenmiş tüm giysilerinizi hemen kaldırın/çıkarın. Cildinizi su ile durulayın. P304 + P340 + P310: SOLUNDUĞUNDA: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P305 + P351 + P338 + P310: GÖZ İLE TEMASI HALİNDE: Su ile birkaç dakika dikkatlice durulayın. Takılı ve yapması kolaysa, kontak lensleri çıkartın. Durulamaya devam edin. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P391: Döküntüleri toplayın. 593-84-0 Guanidinyum tiyosiyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutan-2,3-diol

Kit/Kasetler	Bileşenler ve reaktif içerikleri	Test başına kullanılan miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 test (P/N: 06768253190)	PK (cobas® 4800 System Proteinaz K) Tris tamponu EDTA Kalsiyum klorür Kalsiyum asetat < %2,0 proteinaz K** Gliserin	10 × 0,9 mL	 TEHLİKE H317: Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açar. H334: Solunması halinde nefes alma zorlukları, astım nöbetleri veya alerjiye yol açabilir. P261: Sisi veya buharı solumaktan kaçının. P280: Koruyucu eldiven kullanın. P284: Solunum koruyucu giyin. P304 + P340: SOLUNDUĞUNDA: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun. P333 + P313: Ciltte tahriş veya döküntü söz konusu ise: Tıbbi yardım/bakım alın. P342 + P311: Solunumla bulguları gösterirse: ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. 39450-01-6 Proteinaz, <i>Tritirachium album</i> serin
	SDS (cobas® 4800 System SDS Reaktif) Tris tamponu Sodyum dodesil sülfat %0,09 sodyum azit	10 × 3 mL	Uygul.

Kit/Kasetler	Bileşenler ve reaktif içerikleri	Test başına kullanılan miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 test (P/N: 06768270190)	LYS-1 (cobas® 4800 System Lysis Buffer 1) Sodyum sitrat %5 polidokanol** %42,6 guanidinyum tiyosiyanat** Ditiyotireitol**	10 x 36 mL	 TEHLİKE H302: Yutulması halinde zararlıdır. H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar. H411: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, toksik etki. EUH032: Asitlerle temasında çok toksik gaz çıkarır. EUH071: Solunum yolu için aşındırıcıdır. P273: Çevreye verilmesinden kaçının. P280: Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın. P303 + P361 + P353: DERİ (veya saç) İLE TEMAS HALİNDE İSE: Kirlenmiş tüm giysilerinizi hemen kaldırın/çıkarın. Cildinizi su ile durulayın. P304 + P340 + P310: SOLUNDUĞUNDA: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P305 + P351 + P338 + P310: GÖZ İLE TEMASI HALİNDE: Su ile birkaç dakika dikkatlice durulayın. Takılı ve yapması kolaysa, kontak lensleri çıkartın. Durulamaya devam edin. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P391: Döküntüleri toplayın. 593-84-0 Guanidinyum tiyosiyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutan-2,3-diol

Kit/Kasetler	Bileşenler ve reaktif içerikleri	Test başına kullanılan miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 test (P/N: 06768270190)	PK (cobas® 4800 System Proteinaz K) Tris tamponu EDTA Kalsiyum klorür Kalsiyum asetat < %2,0 proteinaz K** Gliserin	20 × 1,2 mL	 TEHLİKE H317: Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açar. H334: Solunması halinde nefes alma zorlukları, astım nöbetleri veya alerjiye yol açabilir. P261: Sisi veya buharı solumaktan kaçının. P280: Koruyucu eldiven kullanın. P284: Solunum koruyucu giyin. P304 + P340: SOLUNDUĞUNDA: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun. P333 + P313: Ciltte tahriş veya döküntü söz konusu ise: Tıbbi yardım/bakım alın. P342 + P311: Solunumla bulguları gösterirse: ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. 39450-01-6 Proteinaz, <i>Tritirachium album</i> serin
	SDS (cobas® 4800 System SDS Reaktif) Tris tamponu Sodyum dodesil sülfat %0,09 sodyum azit	10 × 9 mL	Uygulanamaz
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 test (P/N: 05235863190)	WB (cobas® 4800 System Wash Buffer) Sodyum sitrat dihidrat %0,05 N-metilzotiyazolon HCl	10 × 55 mL	Uygulanamaz
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 test (P/N: 05235871190)	WB (cobas® 4800 System Wash Buffer) Sodyum sitrat dihidrat %0,05 N-metilzotiyazolon HCl	10 × 200 mL	Uygulanamaz
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 20 çalışma (P/N: 06768318190)	IC-1 (cobas® 4800 IC-1) Tris tamponu EDTA < %0,01 Poly rA RNA (sentetik) %0,05 sodyum azit < %0,01 Lambda bakteriyofaj kaplamalı proteinde kapsüllenmiş bulaşıcı olmayan, sentetik dahili kontrol DNA	20 × 0,5 mL	Uygulanamaz

Kit/Kasetler	Bileşenler ve reaktif içerikleri	Test başına kullanılan miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Amplification/ Detection Kit 80 test (P/N: 06768199190)	HSV MMX (cobas® HSV 1 and 2 Master Mix) Trisin tamponu EDTA Potasyum asetat Potasyum hidroksit Tween 20 Gliserol < %0,19 dATP, dCTP, dGTP, dUTP < %0,01 yukarı yönlü ve aşağı yönlü HSV-1, HSV-2 ve Internal Control primerleri < %0,01 floresan etiketli HSV-1, HSV-2 ve Internal Control problemleri < %0,01 oligonükleotid aptamer < %0,01 Z05 DNA polimeraz (mikrobik) < %0,02 AmpErase (ürasil-N-glikozilaz) enzimi (mikrobik) %0,09 sodyum azit	10 × 0,3 mL	Uygulanamaz
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit 10 çalışma (P/N: 06768296190)	HSV (+) C (cobas® HSV 1 and 2 Positive Control) Tris tamponu EDTA < %0,01 Poly rA RNA (sentetik) %0,05 sodyum azit < %0,01 HSV 1 dizisini içeren bulaşıcı olmayan plazmid DNA (mikrobik) < %0,01 HSV 2 dizisini içeren bulaşıcı olmayan plazmid DNA (mikrobik)	10 × 0,5 mL	Uygulanamaz
	(-) C (cobas® 4800 System Negative Control) Tris tamponu EDTA %0,05 sodyum azit < %0,01 Poly rA RNA (sentetik)	10 × 0,5 mL	Uygulanamaz
	Cofactor-2 (cobas® 4800 Cofactor-2) Manganez asetat Magnezyum asetat %0,09 sodyum azit	10 × 1,7 mL	Uygulanamaz

* Ürün güvenlik etiketi öncelikli olarak AB GHS kılavuzlarına tabidir.

** Tehlikeli madde.

Reaktif saklama ve kullanma

Reaktif	Saklama sıcaklığı	Saklama süresi
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit	2–8°C	Belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir
cobas® 4800 System Lysis Kit 1	2–8°C	Belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1	2–8°C	Belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit	2–8°C	Belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit	2–8°C	Belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25°C	Belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir

Not: Reaktifleri dondurmayın.

Reaktifin son kullanma tarihi, Koordineli Evrensel Zamana (UTC) dayanır. Reaktifin son kullanma tarihi için yerel saat, UTC'ye göre yerel saat dilimine bağlı olarak artı veya eksi 12 saat ile dengelenebilir.

Diğer gerekli materyaller

Materyaller	P/N
CORE Uçlar, 1000 µL, 96'lı rak	04639642001
50 mL Reagent Reservoir	05232732001
200 mL Reagent Reservoir	05232759001
cobas® 4800 System Extraction Plate (derin kuyucuk) plakası kullanın	05232716001
cobas® 4800 System AD (mikrokuyucuk) plakası 0,3 mL ve kapatıcı film	05232724001
Kapatıcı folyo aplikatörü	04900383001
32 konumlu taşıyıcı	04639529001
Katı atık torbası	05530873001 (küçük) veya 04691989001 (büyük)
Hamilton STAR Plastic Chute	04639669001
MSwab Collection, Transport and Preservation System	7007248190 veya COPAN 404C.R
Tek kullanımlık eldivenler, pudrasız	Pudrasız tek kullanımlık eldivenler kabul edilebilir.
Vorteks Karıştırıcı (tek tüp)	Herhangi bir vorteks karıştırıcı kabul edilebilir.

Ayrı satılan materyallerle ilgili daha fazla bilgi için, lütfen yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

İsteğe bağlı materyal

Materyaller	P/N
Derin kuyucuklu plaka kapağı	Hamilton 6474-01
Kapaklar, beyaz renk (çalışma sonrası primer numunelerin tekrar kapatılması için)	07033893001 veya COPAN 2U008N100.R

İsteğe bağlı materyallerle ilgili daha fazla bilgi için, lütfen yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

Gereken ancak sağlanmayan cihaz ve yazılımlar

Gerekli cihaz ve yazılımlar, sağlanmamıştır
cobas® 4800 Sistemi cobas® x 480 Cihazı cobas® z 480 Analizör Kontrol Ünitesi
cobas® 4800 sistemi cobas® HSV 1 and 2 AP Software Sürüm 1.0.0 veya üstü
cobas® 4800 Sistemi Uygulama Yazılımı (Ana) Sürüm 2.2.0 veya üstü

Ayrı satılan materyallerle ilgili daha fazla bilgi için, lütfen yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

Önlemler ve taşıma gereklilikleri

Uyarılar ve önlemler

Herhangi bir test prosedüründe olduğu gibi, bu testin iyi performans sağlaması için iyi laboratuvar uygulamaları esastır. Bu testin analitik hassasiyetinin yüksek olması nedeniyle, reaktifleri, numuneleri ve amplifikasyon karışımlarını kontaminasyondan korumaya dikkat edilmelidir.

- Sadece *in vitro* diagnostik kullanım içindir.
- Reaktiflerin ve numunelerin mikrobik ve DNA kontaminasyonunu önleyin.
- Güvenlik Bilgi Formları (SDS) talep halinde bölge Roche ofisinizden temin edilebilir.
- LYS-1 reaktifi guanidin tiyosiyanat içerir. Guanidin tiyosiyanat ve sodyum hipoklorit (ağartıcı) ya da asitler veya bazlar gibi yüksek oranda reaktif diğer ajanlar arasında doğrudan temasa izin vermeyin. Bu karışımlar zehirli gaz salabilir.
- MGP izopropanol içerir ve yüksek oranda yanıcıdır. Alevden ve potansiyel kıvılcım çıkaran ortamlardan uzak tutun.
- EB, HSV 1 ve 2 MMX, SDS, Cofactor-2, (-)C, HSV 1 ve 2 (+)C ve IC-1 sodyum azid içerir.
- cobas® x 480 cihazının veya cobas® z 480 analizörünün kontaminasyon riskini azaltmaya yönelik ek uyarılar, önlemler ve prosedürler için cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'na bakın. Kontaminasyondan şüpheleniliyorsa cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'nda açıklandığı şekilde temizlik ve haftalık bakım gerçekleştirin.**
- Bu testi kullanırken meydana gelebilecek tüm ciddi olayları yerel yetkili makama bildirin.

Not: Özel talimatlar için bkz. “Numune toplama, taşıma ve saklama”.

İyi laboratuvar uygulamaları

- Ağzınızla pipetleme yapmayın.
- Laboratuvar çalışma ortamlarında yiyecek veya içecek tüketmeyin veya sigara içmeyin.
- Numunelerle ve kit reaktifleriyle işlem yaptıktan sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- Reaktiflerle işlem yaparken gözlük, laboratuvar önlüğü ve tek kullanımlık eldiven kullanın. Bu materyallerin cildinize, gözlerinize veya mukoza membranlarına temas etmesinden kaçının. Temas etmeniz durumunda, vakit kaybetmeden bol miktarda suyla yıkayın. Tedavi edilmezse yanıklar oluşabilir. Dökülme meydana gelirse, silmeden önce suyla seyreletin.

- Distile veya deiyonize suya %0,5 oranında sodyum hipoklorit ekleyerek taze hazırlayacağınız çözeltiyle laboratuvardaki tüm çalışma yüzeylerini iyice temizleyin ve dezenfekte edin (ev temizliği için kullanılan çamaşır suyunu 1:10 oranında seyreltin). Bunun ardından %70 etanol içeren çözeltiyle yüzeyi silin.

Kontaminasyon

- Kontaminasyonu önlemek için eldiven kullanılmalıdır ve farklı örneklerle ve **cobas®** HSV 1 and 2 Test reaktifleriyle işlem yapıldıktan sonra eldiven değiştirilmelidir. Numunelerle ve kontrollerle işlem yaparken kontamine edici eldiven kullanmaktan kaçının. Numuneleri ve kit reaktiflerini kullanırken laboratuvar eldiveni, laboratuvar önlüğü ve göz koruması kullanın.
- Reaktiflerin mikrobik ve ribonükleaz kontaminasyonundan kaçının.
- Numunelerin kullanılması sırasında numune taşınması önlenmezse yanlış pozitif sonuçlar meydana gelebilir.
- Numuneler, Mikrobiyoloji ve Biyomedikal Laboratuvarlarında Biyogüvenlik (*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*)¹⁴ ve CLSI Belgesi M29-A3'te¹⁵ tanımlanan iyi laboratuvar uygulamaları kullanılarak enfeksiyöz madde gibi değerlendirilmelidir.

Bütünlük

- Kitleri son kullanma tarihi geçmişse kullanmayın.
- Reaktifleri birleştirmeyin.
- Tek kullanımlık ürünleri son kullanma tarihi geçmişse kullanmayın.
- Tek kullanımlık ürünlerin hepsi sadece bir kez kullanılmak içindir. Tekrar kullanmayın.
- Tüm ekipmanların bakımı üreticinin talimatlarına göre doğru bir şekilde gerçekleştirilmelidir.
- Görünür şekilde zarar görmüş veya sızıntı belirtileri gösteren reaktifleri veya kapları kullanmayın.

İmha

- **cobas®** 4800 reaktifleri ve **cobas®** HSV 1 and 2 Test spesifik reaktifleri sodyum azid içerir (bkz. "Uyarılar ve önlemler"). Sodyum azit, bakır ve kurşun su borularıyla reaksiyona girerek yüksek patlayıcı özelliğe sahip metal azitler oluşturabilir. Laboratuvardaki lavabolarda çözeltileri içeren sodyum azit atılırken, azit birikimini önlemek için bol miktarda soğuk su akıtarak giderleri temizleyin.
- Kullanılmayan reaktifleri ve atıkları ülke genelindeki, federal, eyalet düzeyindeki ve yerel düzenlemelere göre atın.

Not: *Sıvı atıkların imhası için cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'na bakın.*

Dökülme ve temizleme

- LYS-1 reaktifi guanidin tiyosiyanat içerir. Guanidin tiyosiyanat içeren sıvı dökülürse uygun bir laboratuvar deterjanı ve suyla temizleyin. Dökülen sıvı potansiyel olarak bulaşıcı ajanlar içeriyorsa, İLK ÖNCE etkilenen alanı laboratuvar deterjanı ve suyla ve ardından %0,5 sodyum hipoklorit ile temizleyin.
- Dökülme **cobas®** 4800 cihazının üzerinde gerçekleşirse, temizlemek için **cobas®** 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'nda yer alan yönergeleri izleyin.
- **cobas®** x 480 cihazını veya **cobas®** z 480 analizörünü temizlemek için sodyum hipoklorit çözeltisi (çamaşır suyu) kullanmayın. **cobas®** x 480 cihazını veya **cobas®** z 480 analizörünü, **cobas®** 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'nda tarif edilen prosedürlere göre temizleyin.

Numune alma, taşıma ve saklama

Not: Tüm numuneleri bulaşıcı madde yayma potansiyeli olduğunu varsayarak kullanın.

Numunelerin toplanması

MSwab Collection, Transport and Preservation System ile toplanan anogenital lezyon sürüntü numuneleri cobas® HSV 1 and 2 Test ile kullanım için doğrulanmıştır. Numuneler, Numune Alma Prosedürü bölümünde ayrıntılı olarak açıklanan prosedür izlenerek ve kurumunuzun standart çalışma prosedürlerine göre alınmalıdır.

Numunelerin taşınması, saklanması ve stabilitesi

MSwab Collection, Transport and Preservation System ile alınan anogenital lezyon sürüntü numuneleri, taşıma ve saklama için 2–30°C'de 4 gün veya 2–8°C'de 14 gün stabildir ve cobas® 4800 Sisteminde test edilmeden önce en az 30 gün boyunca dondurulur (bu, 4 gün boyunca 31±1°C'de, ardından 14 gün boyunca 2–8°C'de ve ardından 30 gün boyunca -20°C'de ardışık saklamadan sonra numunelerin test edilmesiyle gösterilmiştir).

HSV 1 ve 2 numunelerinin taşınması, etiyolojik ajanların taşınmasıyla ilgili ülke genelindeki, federal, eyalet düzeyindeki ve yerel düzenlemelere uygun olmalıdır.

Kullanım talimatları

Testin çalıştırılması

İş akışı

Şekil 1 cobas® HSV 1 and 2 Test iş akışı

1	Sistemi başlatın
2	Cihaz bakımını gerçekleştirin
3	Numuneleri ve reaktifleri saklama alanından çıkarın
4	Çalışmayı başlatın: • Raklara numuneleri yükleyin
5	LIS varsa: iş istemini onaylayın LIS yoksa: iş istemini oluşturun
6	Sarf malzemelerini (derin kuyucuklu plaka, mikrokuyucuklu plaka, uç rakları) ve reaktifleri yükleyin
7	Numune hazırlama çalışmasını başlatın
8	Mikrokuyucuklu plakayı çıkarın ve kapatın
9	Numuneleri, kullanılan reaktifleri ve derin kuyucuklu plakayı çıkarın
10	Mikrokuyucuklu plakayı analizöre yükleyin
11	Sonuçları gözden geçirin
12	LIS ile: sonuçları LIS'e gönderin
13	Analizörü boşaltın

Test prosedürü

Numune alma prosedürü

Optimum sonuçlar için hastadan doğru numune alınması oldukça önemlidir. Numune toplama ve virüslerin saptanmasına ilişkin spesifik kılavuzlar, yayınlanmış referans kılavuzlarda bulunabilir (CLSI M41-A).¹⁷

Optimum sonuçlar için, **cobas®** HSV 1 and 2 Test için numuneler mümkün olduğunca hastalığın akut evresinde, tercihen hastalığın başlangıcından (lezyonların erüpsiyonu) sonraki 3 gün içinde ve 7 günden daha kısa bir süre içinde alınmalıdır.

Numuneler kurumunuzun standart çalışma prosedürlerine ve/veya aşağıda belirtilenlere göre alınmalıdır:

A. Veziküller mevcut (berrak sıvı dolu kabarcık)

1. Lezyon yüzeyini steril salin ile yıkayın/silin.
2. Bir FLOQSwab (tercih edilen), iğne veya bisturi ile vezikülün kapağını dikkatlice açın (bozun) ve FLOQSwab kullanarak sıvıyı alın.
3. Aynı FLOQSwab ile lezyonun tabanındaki hücreleri almak için vezikülün tabanını kuvvetlice ovalayın.
4. Sürüntü çubuğunu MSwab aktarım tüpüne aktarın. Önceden işaretlenmiş noktadan kırmak için sürüntü çubuğu şaftını tüpün kenarına doğru kaldırın.
5. Sürüntü çubuğu şaftının üst ucunun kapağın ortasında olduğundan emin olarak kapağı sıkıca kapatın.

B. Vezikül yok (rüptüre, akan vezikül veya kabuklu ülser)

1. Kabuk yoksa (rüptüre ve/veya akan vezikül)
 - a. Kuru bir FLOQSwab veya iki damla steril serum fizyolojik ile önceden nemlendirilmiş bir sürüntü çubuğu kullanarak, lezyonun tabanını kuvvetlice ovalayarak hücreleri alın.
 - b. Sürüntü çubuğunu MSwab aktarım tüpüne aktarın. Önceden işaretlenmiş noktadan kırmak için sürüntü çubuğu şaftını tüpün kenarına doğru kaldırın.
 - c. Sürüntü çubuğu şaftının üst ucunun kapağın ortasında olduğundan emin olarak kapağı sıkıca kapatın.
2. Lezyonda kabuk varsa (kabuklu ülser)
 - a. Steril salin ile önceden nemlendirilmiş bir FLOQSwab kullanarak kabuğu hafifçe kaldırın
 - b. Lezyonun tabanını kuvvetlice ovalayarak numune alın.
 - c. Alternatif olarak, seröz sıvı çıkana kadar lezyonu steril bir bisturi veya iğne ile hafifçe aşındırın (kanamadan kaçının) ve vezikülün tabanını kuvvetlice ovalayarak önceden nemlendirilmiş bir FLOQSwab ile numune alın.
 - d. Sürüntü numunesini MSwab aktarım tüpüne aktarın. Önceden işaretlenmiş noktadan kırmak için sürüntü çubuğu şaftını tüpün kenarına doğru kaldırın.

Numuneyi etiketleyin ve kurumunuzun standart çalışma prosedürlerine göre test laboratuvarına aktarın (aynı zamanda “Numune toplama, saklama ve taşıma” bölümüne bakın). Numunelerle ilgili notlar için “İş akışı” bölümüne bakın.

HSV 1 ve 2 MMX ve Kofaktör 2 hariç tüm reaktifler, **cobas®** x 480 cihazına yüklenmeden önce ortam sıcaklığında olmalıdır. HSV 1 ve 2 MMX ve Kofaktör 2 reaktifleri, işlemde kullanıldıkları zamana kadar **cobas®** x 480 cihazında ortam sıcaklığına dengelendiklerinden doğrudan 2–8°C sıcaklıktaki depodan alınabilir.

Not: Ayrıntılı çalıştırma yönergeleri için cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'na bakın.

Çalışma hacmi

cobas® 4800 Sistemi, **cobas®** HSV 1 and 2, **cobas®** Cdiff ve **cobas®** MRSA/SA testleri arasında karışık seri çalışmalarını desteklemek üzere tasarlanmıştır. Genel **cobas®** 4800 System Sample Preparation Kit, genel **cobas®** 4800 System Lysis Kit 1 ve genel **cobas®** 4800 System Wash Buffer Kit, her biri çalıştırılacak tüm testler için kontrolleri ve numuneleri içeren 24 veya 96 numuneye kadar 10 çalışma için yeterli iki kit boyutunda mevcuttur. **cobas®** 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit, her biri HSV 1 ve 2 kontrollerini ve çalışılacak numuneleri içeren 80 veya 240 numuneyi test etmek için yeterli iki boyutta mevcuttur. Birden fazla **cobas®** 4800 HSV 1 and 2 Master Mix reaktifi flakonu, aynı kit boyutunda oldukları sürece tek bir çalışmada uygun şekilde kullanılabilir. Genel **cobas®** 4800 System Internal Control Kit 1 ve **cobas®** 4800 HSV 1 and 2 Controls & Cofactor Kit, sırasıyla 20 ve 10 çalışma için yeterli olan ve tüm çalışma konfigürasyonlarını destekleyebilen tek bir kit boyutunda mevcuttur. HSV 1 ve 2 numunelerini içeren her çalışma için bir **cobas®** 4800 HSV 1 and 2 Positive Control ve bir **cobas®** 4800 System Negative Control çalışılmalıdır (bkz. “Kalite kontrol”). Tek bir test çalışması için izin verilen maksimum numune sayısı 94 numune ve 2 kontroldür.

Not: *Reaktiflerin optimum kullanımı olmamasına rağmen, 1–22 numune içeren bir çalışma için 96 testlik bir genel reaktif kullanılabilir. Ancak cobas® 4800 System Wash Buffer (WB) Kit, cobas® 4800 System Sample Preparation Kit ve cobas® 4800 System Lysis Kit 1'nin farklı boyutları karıştırılamaz. Örneğin çalışmanın başlangıcında 96 testlik WB reaktif şişesi taranırsa, diğer iki kitten 96 test boyutunda reaktifler de kullanılmalıdır.*

Not: *Reaktiflerin optimum kullanımı olmamasına rağmen, 1–6 HSV numunesi içeren bir çalışma için 24 testlik cobas® 4800 HSV 1 ve 2 MMX kullanılabilir. Kit boyutunun nasıl değiştirileceğine ilişkin ayrıntılar için bkz. cobas® 4800 System – Yardım Asistanı.*

İş akışı

cobas® HSV 1 and 2 Test, **cobas®** 4800 Yazılımı içindeki tam iş akışı kullanılarak gerçekleştirilir. **cobas®** x 480 cihazında numunenin hazırlanmasını ve ardından **cobas®** z 480 analizöründe amplifikasyonu/saptamayı içerir. Çalışma sadece HSV 1 ve 2 olabilir veya **cobas®** Cdiff ve/veya **cobas®** MRSA/SA testleri ile karışık olarak yapılabilir. Ayrıntılar için **cobas®** 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'na bakın.

Numuneler

Not: *cobas® HSV 1 and 2 Test, MSwab Collection, Transport and Preservation System ile kullanım için doğrulanmıştır. Başka sürüntü alma cihazları veya ortam türleri kullanmayın.*

Not: *Düzgün alınan bir anogenital lezyon sürüntü numunesinde, şaftın kapak tarafından tutulduğu tek bir FLOQ sürüntü çubuğu olmalıdır. Sürüntü numunesi olmayan veya birden fazla sürüntü numunesi olan gelen numuneler talimatlara uygun olarak alınmamıştır ve test edilmemelidir.*

Not: *Kanlı görünen veya koyu kahverengi renge sahip anogenital lezyon sürüntü numunelerini işlemeyin.*

Not: *Numuneler, cobas® x 480 cihazında işlenmek üzere uygun barkoda sahip primer numune kaplarında olmalıdır. Uygun barkodlama prosedürleri ve cobas® 4800 Sistemi için kabul edilebilir barkodların listesi için cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'na başvurun.*

Not: *Çapraz kontaminasyonu önlemek için, primer tüplerin diğer işlem ve testlerden önce cobas® 4800 Sisteminde işlenmesi önerilir.*

Not: *İşlenmiş numunelerin çapraz kontaminasyonunu önlemek için, işlemiden sonra numuneleri kapatmak amacıyla MSwab numune kabı için farklı renkte (beyaz; bkz. “İsteğe bağlı materyaller”) ek kapaklar kullanılmalıdır.*

Not: *MSwab Collection, Transport and Preservation System ile toplanan anogenital lezyon sürüntü numuneleri cobas® 4800 Sisteminde iki kez test edilmek için yeterli hacim içerir. cobas® HSV 1 and 2 çalışmasını yürütmek için minimum hacim, primer MSwab numune kabında 700 µL'dir.*

cobas® HSV 1 and 2 Test'in gerçekleştirilmesi

Not: *cobas® HSV 1 and 2 ve cobas® Cdiff ve/veya cobas® MRSA/SA testleri arasında karışık seri çalışmaları yürütülebilir. Daha fazla bilgi için cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'na bakın.*

1. **cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı**'ndaki talimatları takip ederek sistemi başlatma ve bakım prosedürlerini gerçekleştirin.
2. Gereken tüm reaktifleri ve sarf malzemelerini toplayın. **cobas® HSV 1 and 2 MMX ve Cofactor-2** reaktifleri hariç olmak üzere, reaktifler çalışma başlatıldığında oda sıcaklığında olmalıdır.

Not: *Tüm reaktifler ve reaktif hazneleri barkodludur ve tek kullanımlık olarak tasarlanmışlardır. cobas® 4800 Yazılımı, reaktiflerin ve reaktif haznelerinin kullanımını izler ve önceden kullanılmış reaktifleri veya reaktif haznelerini reddeder.*

3. MSwab ortamında toplanan anogenital lezyon sürüntü numunelerinin görünümünü kontrol ederek “Numuneler” bölümündeki gereklilikleri karşıladığından emin olun. Tüm kapakların sıkıldığından emin olun. Numuneyi en az 5 saniye vorteksleyin. Tüpün kapağını açın (sürüntü çubuğu üst kısmı kapak tarafından tutulmalıdır) ve fazla sıvıyı boşaltmak için sürüntü çubuğunu tüpün iç duvarının etrafında döndürün. **cobas® 4800** Sistemine yüklemeyi hemen önce sürüntü çubuğunu ve kapağı atın. Sürüntü çubuğunun kapakla birlikte çıkarıldığından emin olun. Numune flakonunda bırakılan sürüntü çubuğu **cobas® HSV 1 and 2 Test** ile interferans oluşturacaktır.
4. Yeni bir çalışma başlatın ve çalışma için iş istemini tanımlayın. Bir iş istemi oluşturmak için üç yol vardır:
 - Numune rakı **cobas® x 480** cihazına yüklenmeden önce numune düzenleyiciyi kullanarak (ana menünün sağındaki “Editor” (Düzenleyici) düğmesi). İş istemleri kaydedilebilir, düzenlenebilir ve gerekirse tekrar yüklenebilir.
 - Yeni çalışma için yazılım sihirbazını izleyerek ve istendiğinde numuneleri **cobas® x 480** cihazına yükleyerek. Numune barkodları otomatik olarak taranır ve her numune için istenen sonuçlar tanımlanmalıdır.
 - Kurumunuzun LIS sistemini kullanarak.

Ayrıntılar için **cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı**'na bakın. İstenen sonuçları seçerken “HSV 1 and 2” öğesini işaretleyin.

5. Numuneleri yükleyin ve uygun olan şekilde iş isteğini tanımlayın/seçin veya LIS'i kullanın. “Derin kuyucuklu plakayı aktardıktan sonra numune taşıyıcılarını boşalt” seçeneği varsayılan olarak seçilidir. Bu, operatörün kalan numuneleri **cobas® x 480** cihazı ile işlenmek üzere alıkotlandıktan sonra mümkün olan en kısa sürede almasını sağlar. Saklama gerekiyorsa numune kapları yeni bir kapakla tekrar kapatılmalıdır (bkz. “İsteğe Bağlı Materyaller”).
6. Yazılım sihirbazı rehberini takip edin ve sarf malzemelerini yükleyin. Yazılım, kalan uç sayısını takip ettiğinden, uçları kısmen kullanılmış bir uç rakına tek tek uç yüklemeyin veya çıkarmayın. Yapılacak çalışma için yeterli uç yoksa yazılım kullanıcıyı uyarır.

7. Numune hazırlama reaktiflerini barkodlu reaktif haznelere yükleyin. Reaktif hazneleri iki boyutta mevcuttur: 200 mL ve 50 mL. Doğru reaktif haznesi boyutunu seçmek için yazılım sihirbazı kılavuzunu izleyin. Reaktif haznesi barkodları, taşıyıcının sağ tarafına bakmalıdır. Numune hazırlama reaktiflerini yüklemek için “tara-tara-dök-yerleştir” yöntemini kullanın:

- Reaktif şişesinin barkodunu tarayın
- Reaktif haznesinin barkodunu tarayın
- Reaktif hazneye dökün
- Dolu reaktif haznesini reaktif taşıyıcı üzerinde belirtilen konuma yerleştirin.

Not: *cobas® 4800 Sistemi, reaktiflerin cihaz üzerinde olduğu süreyi izlemek için dahili bir saate sahiptir. WB tarandığında yükleme işleminin tamamlanması için 1 saat bekleyin ve “Start” (Başlat) düğmesine tıklayın. “Workplace” (İşyeri) sekmesinde bir geri sayım saati görüntülenir. Cihaz üzerinde kalma süresi sayacı dolmuşsa sistem, çalışmanın başlamasına izin vermez.*

Not: *MGP'nin doğru transferini sağlamak için, reaktif haznesine dağıtmadan hemen önce MGP flakonunu vorteksleyin veya kuvvetlice çalkalayın.*

8. Amplifikasyon/saptama reaktiflerini (HSV 1 ve 2 MMX ve Kofaktör 2), proteinaz K (PK) ve kontrolleri [HSV 1 ve 2 (+) C, IC ve (-) C] doğrudan reaktif taşıyıcılarına yükleyin. Kontaminasyonu önlemek için pozitif kontrolleri kullandıktan sonra eldivenleri değiştirin.

Not: *Yazılım sihirbazı, kullanılacak en uygun cobas® HSV 1 and 2 MMX reaktif sayısını ve boyutunu hesaplayacaktır. Bu, MMX ve Kofaktör yükleme ekranındaki “Kit size” (Kit boyutu) sütununa yansıtılacaktır. Farklı boyutta bir cobas® HSV 1 and 2 MMX reaktif kullanmak için “Change kit size” (Kit boyutunu değiştir) düğmesine tıklayın.*

9. “Start run” (Çalışmayı başlat) ögesine tıklayarak numunenin hazırlanmasını başlatın.

10. Başarılı olan numunenin hazırlanması çalışmasından sonra, “Sample Preparation results” (Numune hazırlama sonuçları) düğmesi ve “Unload” (Boşalt) düğmesi kullanılabilir hale gelir. İsterseniz sonuçları gözden geçirmek için “Sample Preparation results” düğmesine basın, ardından plaka taşıyıcısını boşaltmak için “Unload” ögesini seçin. Alternatif olarak sonuçları gözden geçirmeden plaka taşıyıcısını boşaltmak için “Unload” ögesini seçin. Bkz. **cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı**.

11. Mikrokuyucuk plağını kapatmak, plakayı **cobas® z 480** analizörüne aktarmak ve amplifikasyon ve saptama çalışmasını başlatmak için **cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı**ndaki talimatları takip edin.

Not: *cobas® 4800 Sistemi, hazırlanan numunelerin aktive edilen Master Mix eklenmesinden sonraki süreyi izlemek için dahili bir saate sahiptir. Amplifikasyon ve saptama, mümkün olan en kısa sürede, cobas® x 480 cihazının çalışması bittikten en geç 90 dakika sonra başlatılmalıdır. “Workplace” (İşyeri) sekmesinde bir geri sayım saati görüntülenir. Sayacın süresi dolmuşsa sistem çalışmayı iptal eder.*

12. Amplifikasyon ve saptama çalışması tamamlandığında mikrokuyucuk plakasını **cobas® z 480** analizöründen çıkarın.

13. Sonuçları gözden geçirmek ve kabul etmek için **cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı**ndaki talimatları takip edin.

Sonuçlar

Kalite kontrol ve sonuçların geçerliliği

Her çalışmaya bir **cobas®** HSV 1 and 2 Test Pozitif hem de Negatif Kontrol dahildir. Herhangi bir çalışma için, o çalışmadan raporlanabilir **cobas®** HSV 1 and 2 Test sonuçlarını görüntülemek üzere **cobas®** 4800 Yazılımı için hem Pozitif hem de Negatif Kontrol için geçerli sonuçlar elde edilmelidir.

Pozitif kontrol

HSV 1 ve 2 (+) Control, hem HSV-1 hem de HSV-2'nin bulaşıcı olmayan DNA plazmidlerini içerir. HSV 1 ve 2 (+) Control, testin spesifik bir çalışmasında nükleik asit ekstraksiyonu, amplifikasyonu ve saptama adımlarını izler. HSV 1 ve 2 (+) Control sonucu "Geçerli" olmalıdır. HSV 1 ve 2 (+) Control sonuçları tutarlı bir geçersizlik gösteriyorsa, teknik destek için yerel Roche ofisinizle iletişime geçin.

Negatif kontrol

(-) Control sonucu "Geçerli" olmalıdır. (-) Control sonuçları tutarlı bir geçersizlik gösteriyorsa, teknik destek için yerel Roche ofisinizle iletişime geçin.

Internal kontrol

Internal Control, dahili kontrole özgü primerler ve prob için randomize diziler ve hedefler içeren bir lambda fajı molekülüdür. Internal Control, **cobas®** x 480 cihazında numune hazırlama sırasında tüm numunelere ve Positive ve Negative Control'lere eklenir. Internal Control, spesifik bir numune için nükleik asit ekstraksiyonu, amplifikasyonu ve saptama adımlarını izler. Internal Control, çalışma kontrollerinin doğrulanması için de gereklidir.

Sonuçların yorumlanması

Not: Tüm test ve çalışma validasyonu **cobas® 4800 Software ile belirlenir.**

Not: Geçerli bir çalışması hem geçerli hem de geçersiz numune sonuçlarını içerebilir.

Geçerli bir çalışma için, numune sonuçları Tablo 1'da gösterildiği gibi yorumlanır.

Tablo 1 cobas® HSV 1 and 2 Testi için sonucun yorumlanması

cobas® HSV 1 and 2 Test	Sonuç raporu ve yorumlama
POS HSV 1, POS HSV 2	HSV-1 Positive, HSV-2 Positive Numune hem HSV-1 hem de HSV-2 DNA varlığı açısından pozitifdir.
NEG HSV 1, NEG HSV 2	HSV-1 Negative*, HSV-2 Negative* HSV-1 veya varsa HSV-2 DNA saptanamamıştır.
NEG HSV 1, POS HSV 2	HSV-1 Negative*, HSV-2 Positive Varsa HSV-1 DNA saptanamamıştır. Numune HSV-2 DNA varlığı açısından pozitifdir.
POS HSV 1, NEG HSV 2	HSV-1 Positive, HSV-2 Negative* Numune HSV-1 DNA varlığı açısından pozitifdir. Varsa HSV-2 DNA saptanamamıştır.
Invalid HSV 1, NEG HSV 2	HSV-1 Invalid, HSV-2 Negative* HSV-1 sonucu Invalid'dir (Geçersiz). Geçerli HSV-1 sonucu almak için orijinal numune tekrar test edilmelidir. Varsa HSV-2 DNA saptanamamıştır.

cobas® HSV 1 and 2 Test	Sonuç raporu ve yorumlama
NEG HSV 1, Invalid HSV 2	HSV-1 Negative*, HSV-2 Invalid Varsa HSV-1 DNA saptanamamıştır. HSV-2 sonucu Invalid'dir (Geçersiz). Geçerli HSV-2 sonucu almak için orijinal numune tekrar test edilmelidir.
Invalid HSV 1, Invalid HSV 2	HSV-1 Invalid, HSV-2 Invalid HSV-1 ve HSV-2 sonuçlarının ikisi de Invalid'dir (Geçersiz). Geçerli HSV-1 ve HSV-2 sonuçları elde etmek için orijinal numunenin tekrar test edilmesi gerekir.
Invalid HSV 1, POS HSV 2	HSV-1 Invalid, HSV-2 Positive HSV-1 sonucu Invalid'dir (Geçersiz). Geçerli HSV-1 sonucu almak için orijinal numune tekrar test edilmelidir. Numune HSV-2 DNA varlığı açısından pozitifdir.
POS HSV 1, Invalid HSV 2	HSV-1 Positive, HSV-2 Invalid Numune HSV-1 DNA varlığı açısından pozitifdir. HSV-2 sonucu Invalid'dir (Geçersiz). Geçerli HSV-2 sonucu almak için orijinal numune tekrar test edilmelidir.
Failed	No Result for Specimen Çalışma işaretleri ve önerilen işlemlerin gözden geçirilmesine ilişkin talimatlar için cobas® 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'na başvurun. Orijinal numune en az 5 saniye vortekslenmeli ve geçerli HSV sonuçları elde etmek için tekrar test edilmelidir.

* Negatif bir sonuç, sonuçların yeterli numune toplama, inhibitör yokluğu ve saptanacak yeterli DNA'ya bağlı olmasından dolayı HSV-1 ve/veya HSV-2 enfeksiyonu varlığı olasılığını dışta bırakmaz.

Numune, nükleik asit hedef ekstraksiyonunu ve/veya amplifikasyonunu ve saptamayı önleyen inhibe edici maddeler içeriyorsa geçersiz sonuçlar elde edilebilir. Bilinen interferans oluşturan maddeler için bkz. "Prosedür ile ilgili sınırlamalar". Sonuçların geçersiz olması durumunda, orijinal numuneyi yeni bir MSwab flakonuna 0,2 mL ekleyerek seyreltin, en az 5 saniye vorteksleyin ve tekrar test edin.

Numune, **cobas® 4800** cihazındaki numune hazırlama prosedürü ile interferans oluşturan pıhtılar içeriyorsa başarısız sonuçlar elde edilebilir.

Sonuç işaretlerinin listesi

Aşağıdaki tablo, sonuç yorumlaması ile ilgili işaretleri listeler.

Tablo 2 cobas® HSV 1 and 2 Test işaretlerin listesi

cobas® HSV 1 and 2 Test	cobas® HSV 1 and 2 Test	Sonuç raporu ve yorumlama
R20	Pozitif kontrol geçersizdir.	Harici kontrol geçersiz. 1. Tüm çalışmayı yeni reaktiflerle tekrarlayın. 2. Sorun devam ederse Roche Servisi ile iletişime geçin.
R21	Negatif kontrol geçersizdir.	Harici kontrol geçersiz. 1. Tüm çalışmayı yeni reaktiflerle tekrarlayın. 2. Sorun devam ederse Roche Servisi ile iletişime geçin.
X3	Hata: Pıhtı saptandı Numune işlenmedi.	Numunelerin iş akışının tanımına göre kullanıldığından emin olun. 1. Numuneyi pıhtılar için kontrol edin. 2. Numuneyi tekrar çalışın.
X4	Hata: Pipetleme hatası meydana geldi. Numune işlenmedi.	Yetersiz numune hacmi veya pipetleme sırasındaki mekanik hata, en muhtemel nedendir. 1. Yeterli numune hacmi olduğundan emin olun. 2. Uç çıkarma plakasının doğru yerleştirildiğini kontrol edin. 3. Numuneyi tekrar çalışın.

Prosedür ile ilgili sınırlamalar

1. **cobas®** HSV 1 and 2 Test yalnızca MSwab Collection, Transport and Preservation System ile alınan anogenital lezyon sürüntü numuneleri ile kullanım için doğrulanmıştır.
2. Sonuçların güvenilirliği numune için yeterli toplama, taşıma, saklama ve işleme koşullarına bağlıdır. Bu Kullanma Talimatı belgesindeki (Kullanım Talimatları olarak da adlandırılır), MSwab Collection, Transport and Preservation System için Paket İçerikleri ve **cobas®** 4800 Sistemi – Yardım Asistanı'ndaki prosedürleri izleyin.
3. Çeşitli maddelerden kaynaklanan interferans nedeniyle yanlış negatif veya geçersiz sonuçlar alınabilir. Nükleik asit izolasyonu ve PCR amplifikasyonuna engel olabilecek maddeler içeren numuneleri tanımlamaya yardımcı olması için **cobas®** HSV 1 and 2 Test içine Dahili Kontrol eklenir. Bilinen interferans, aşağıdakileri içerir ancak bunlarla sınırlı olmayabilir:
 - Sürüntü çubuğu başına emilen hacmin %40'ından daha fazla miktarda kan içeren numuneler yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Koyu kırmızı veya kahverengi renkte görünen numuneleri test etmeyin.
 - Sürüntü çubuğu başına 4,8 mg'den fazla mün içeren numuneler yanlış negatif sonuçlar oluşturabilir.
 - Sürüntü çubuğu başına 1,6 mg'den fazla dışkı içeren numuneler yanlış negatif sonuçlar oluşturabilir.
 - 20 mg veya daha fazla Vagisil Crème içeren numuneler yanlış negatif sonuçlar verebilir.
4. Pozitif bir sonuç, HSV DNA'sının varlığının göstergesidir ve canlı virüsler olduğu anlamına gelmez. Negatif bir sonuç, klinik numunedeki yetersiz DNA nedeniyle HSV varlığını hariç tutmaz.
5. Primer veya prob bağlanma bölgelerindeki mutasyonlar veya polimorfizmler, yeni veya bilinmeyen varyantların saptanmasını etkileyerek **cobas®** HSV 1 and 2 Test ile yanlış negatif sonuç verebilir.
6. Bir testin tahmin değeri, herhangi bir belirli popülasyonda hastalığın prevalansına bağlıdır.
7. AmpErase enziminin **cobas®** 4800 HSV 1 and 2 Master Mix'e eklenmesi, hedef DNA'nın selektif amplifikasyonunu sağlar; ancak iyi laboratuvar uygulamaları ve bu Kullanım Talimatları belgesinde belirtilen prosedürlere tam uyum, reaktiflerde ve amplifikasyon karışımlarında kontaminasyonu önlemek için gereklidir.
8. Bu ürünü sadece PCR tekniklerinde ve **cobas®** 4800 Sisteminin kullanımında eğitimli olan personel kullanmalıdır.
9. Yalnızca **cobas®** x 480 cihazı ve **cobas®** z 480 analizörünün bu ürünle birlikte kullanılması onaylanmıştır. Bu ürünle birlikte başka hiçbir numune hazırlama cihazı veya PCR Sistemi kullanılamaz.
10. Teknolojiler arasındaki içsel farklılıklardan ötürü, bir teknolojidenden başka birine geçmeden önce kullanıcıların, teknoloji farklılıklarını değerlendirmek için kendi laboratuvarlarında yöntem korelasyon çalışmaları yapmaları önerilir. Teknolojiler arasındaki daha önce bahsedilen farklılıklardan dolayı sonuçlar arasında yüzde yüzlük uyum beklenmemelidir.
11. Çapraz kontaminasyon, yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir. Klinik olmayan bir çalışmada, **cobas®** 4800 Sisteminde **cobas®** HSV 1 and 2 Test'in numuneden numuneye çapraz kontaminasyon oranı, çok yüksek pozitif ve negatif numuneler birden fazla çalışma boyunca test edildiğinde %1,18 olarak saptanmıştır. Çalışmalar arası çapraz kontaminasyon gözlemlenmemiştir.

Klinik olmayan performans değerlendirmesi

Analitik hassasiyet

cobas® HSV 1 and 2 Test için analitik hassasiyet (Saptama Limiti veya LoD), simüle edilmiş bir anogenital lezyon sürüntü matrisinde birden fazla konsantrasyon seviyelerinde seyreltilmiş kantifiye HSV-1 ve HSV-2 viral kültürleri analiz edilerek saptanmıştır. Simüle edilmiş matris müsin ve insan hücrelerinden oluşur ve **cobas®** HSV 1 and 2 Test için klinik anogenital temelini etkisini taklit eder. Tüm seviyeler, **cobas®** HSV 1 and 2 Test reaktiflerinin beş lotunda tam **cobas®** HSV 1 and 2 Test iş akışı kullanılarak en az 21 tekrarla test edilmiştir. Bu test için LoD, en kötü performansı gösteren lot ile elde edilen sonuçlara dayanılarak, test edilen kopyaların $\geq$ %95'inde pozitif olarak saptanabilen hedef konsantrasyon olarak tanımlanır.

Analitik hassasiyet çalışmasında HSV-1 MacIntyre ve HSV-2 G suşları test edilmiştir. Bu izolatlar üzerindeki **cobas®** HSV 1 and 2 Test LoD değeri Tablo 3 içinde gösterilmiştir.

Tablo 3 cobas® HSV 1 and 2 Test LoD (Saptama Limiti)

Organizma	Suş	ATCC ID	Test edilen seviyeler	LoD (TCID ₅₀ birim/mL)
HSV-1	MacIntyre	VR-539	6	0,479
HSV-2	G	VR-734	6	0,112

HSV-1 ve HSV-2 suşlarının saptanması

cobas® HSV 1 and 2 Test'in 4 HSV-1 suşu (VR-260, VR-733, VR-735 ve VR-1493) ve 3 HSV-2 suşu (VR-1779, VR-1781 ve VR-540) üzerindeki saptama limitleri, birden fazla konsantrasyon seviyelerinde seviye başına 40 kopya test edilerek doğrulanmıştır. Dilüsyonlar ve test numuneleri, Saptama Limiti (LoD) çalışmasına benzer şekilde hazırlanmıştır. En az %95 gözlemlenen eşleşme oranına sahip en düşük seviyeler Tablo 4 ve Tablo 5 içinde özetlenmiştir.

Tablo 4 HSV-1 suşlarında cobas® HSV 1 and 2 Test LoD (Saptama Limiti)

HSV-1 suşları	ATCC ID	Test edilen seviyeler	LoD (TCID ₅₀ birim/mL)
KOS	VR-1493	5	3,41
HF	VR-260	6	14,07
F	VR-733	5	5,20
MP	VR-735	4	0,04

Tablo 5 HSV-2 suşlarında cobas® HSV 1 and 2 Test LoD (Saptama Limiti)

HSV-2 suşları	ATCC ID	Test edilen seviyeler	LoD (TCID ₅₀ birim/mL)
ATCC-2011-2	VR-1779	5	0,26
ATCC-2011-4	VR-1781	5	0,24
MS	VR-540	5	2,34

Kesinlik

Kurum içi kesinlik, **cobas®** HSV 1 and 2 Test'in Saptama Limitinin (LoD) altında, LoD'a yakın ve LoD'un üzerinde konsantrasyon seviyelerine kadar simüle edilmiş bir anogenital sürüntü matrisinde seyreltilen HSV-1 ve HSV-2 virüsleri ile gerçekleştirilmiştir. Yalnızca simüle edilmiş anogenital sürüntü matrisinden oluşan bir negatif seviye de test edilmiştir. Çalışmada, 12 gün boyunca toplam 36 çalışma için üç benzersiz **cobas®** HSV 1 and 2 Test reaktifleri ve üç cihaz kullanılmıştır. Kesinlik panellerinin tanımı ve çalışma sonuçları Tablo 6 içinde gösterilmiştir. Geçerli testlerden elde edilen Ct değerlerinin varyans analizi, LoD konsantrasyonlarının üzerindeki pozitif panel üyeleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Analiz, HSV-1 Ct için %2,2 ve HSV-2 Ct için %1,9 genel CV (%) üretir (bkz. Tablo 7 ve Tablo 8).

Tablo 6 Kurum içi hassasiyet çalışması eşleşme oranı analizi

Panel ögesi	Konsantrasyon		HSV-1 (N = 72)			HSV-2 (N = 72)		
	HSV-1	HSV-2	Pozitif sonuçlar	Eşleşme oranı	%95 2-taraflı üst CL	Pozitif sonuçlar	Eşleşme oranı	%95 2-taraflı üst CL
P1	Negatif	Negatif	0	%0	%5	0	%0	%5
P2	< LoD	< LoD	36	%50	%62	40	%56	%67
P3	~ LoD	Negatif	72	%100	%100	0	%0	%5
P4	Negatif	~ LoD	0	%0	%5	71	%99	%100
P5	~ 3 × LoD	~ LoD	72	%100	%100	72	%100	%100
P6	~ LoD	~ 3 × LoD	72	%100	%100	72	%100	%100

Tablo 7 Kesinlik paneli için 3 × LoD (Saptama Limiti) değerinde varyans bileşenleri analizi

Hedef	HSV seviyesi	Ortalama Ct	Varyans bileşenleri/Toplama katkı yüzdesi					
			Lot	Kit boyutu	Cihaz	Çalışma/Gün	Rastgele	Toplam
HSV-1	~ 3 × LoD	37,4	0	0,06	0	0,355	0,289	0,704
			%0	%8,60	%0	%50,40	%41,10	%100
HSV-2	~ 3 × LoD	38,2	0,035	0	0,049	0,102	0,345	0,53
			%6,50	%0	%9,10	%19,30	%65,00	%100

Tablo 8 (%) 3 × LoD'da (Saptama Limiti) kesinlik paneli için standart sapmalar ve varyasyon katsayıları analizi

Hedef	N	Ortalama Ct	Standart sapma bileşenleri/CV (%)					Toplam
			Lot	Kit boyutu	Cihaz	Çalışma/Gün	Rastgele	
HSV-1	72	37,4	0	0,245	0	0,595	0,538	0,839
			%0	%0,70	%0	%1,60	%1,40	%2,20
HSV-2	72	38,2	0,186	0	0,22	0,32	0,587	0,728
			%0,50	%0	%0,60	%0,80	%1,50	%1,90

Kompetitif inhibisyon

Paneller, **cobas**® HSV 1 and 2 Test'in $\sim 3 \times \text{LoD}$ (Saptama Limiti) değerinde HSV-1 ve $\sim 300 \times \text{LoD}$ değerinde rakip HSV-2 ile oluşturulmuştur ve bunun tersi de geçerlidir. HSV-1'in yüz kat daha yüksek konsantrasyonu HSV-2'nin $\sim 3 \times \text{LoD}$ konsantrasyonunda saptanmasını etkilememiş ve HSV-2'nin yüz kat daha yüksek konsantrasyonu HSV-1'in $\sim 3 \times \text{LoD}$ konsantrasyonunda saptanmasını etkilememiştir.

Analitik özgüllük

cobas® HSV 1 and 2 Test'in analitik özgüllüğünü değerlendirmek için aşağıdaki organizma panelleri test edilmiştir: 1) Anogenital sürüntü numunelerinde bulunabilen 71 bakteri, mantar ve virüs (Tablo 9), 2) insan hücreleri (Tablo 9) ve 3) yüksek titreli HSV-1 veya HSV-2 (Tablo 9). Tüm organizmalar, insan hücreleri, HSV-1 ve HSV-2 virüsleri, *Treponema pallidum* hariç 1×10^6 birim*/mL veya daha yüksek konsantrasyonlara eklenmiştir; İnsan Herpes Virüsü 8, *Chlamydia trachomatis* serotip H, *Mycoplasma genitalium* ve *Mycoplasma hominis* stok konsantrasyonu sınırlamaları nedeniyle daha düşük konsantrasyonlara eklenmiştir. Test, **cobas**® HSV 1 and 2 Test'in analitik özgüllüğünü saptamak için yalnızca organizmalar ve insan hücreleri ile gerçekleştirilmiş veya organizmaların ve insan hücrelerinin **cobas**® HSV 1 and 2 Test ile HSV-1 ve HSV-2'nin saptanması üzerindeki potansiyel interferansını değerlendirmek için $\sim 3 \times \text{LoD}$ 'de HSV-1 ve HSV-2 varlığında test edilmiştir. Sonuçlar, HSV-1 ve HSV-2 hedefi mevcut olmadığında bu organizmaların veya yüksek konsantrasyondaki insan hücrelerinin hiçbirinin yanlış pozitif sonuçlar üretmediğini göstermiştir. Bu organizmaların veya yüksek konsantrasyondaki insan hücrelerinin hiçbirisi HSV-1 ve HSV-2 hedeflerinin saptanmasını engellememiştir. Yüksek HSV-1 konsantrasyonu ($1e6$ vp/mL) yanlış HSV-2 pozitif sonuçları üretmemiştir ve yüksek HSV-2 konsantrasyonu ($1e6$ vp/mL) yanlış HSV-1 pozitif sonuçları üretmemiştir.

* Kapsayıcılık Oluşturan Birim (IFU) olarak ölçülen *Chlamydia trachomatis* serotip H ve *Chlamydia trachomatis* serotip I; DNA kopyaları olarak kantifiye edilen *Toxoplasma gondii* ve *Treponema pallidum* ve hücre olarak kantifiye edilen *Trichomonas vaginalis* hariç tüm bakteriler Koloni Oluşturabilen Birimler (CFU) olarak kantifiye edilmiştir. Sitomegalovirüs (HHV5), İnsan Herpes Virüsü 6B Suş Z29, İnsan Herpes Virüsü 7 Suş SB, İnsan Herpes Virüsü 8, Ekovirüs 11, İnsan Enterovirüs 71 ve Rubella Virüs TCID₅₀ birimi olarak kantifiye edilmiştir; HHV-6A suş GS, HSV-1 ve HSV-2 viral partikül olarak kantifiye edilmiştir, HIV-1 suş IIIB ve HBV Uluslararası Birim (IU) olarak kantifiye edilmiştir. HIV-2 suşu NIH-Z, Epstein-Barr Virüsü (HHV4), Varicella-Zoster Virüsü (HHV3) ve HPV plazmidleri (HPV11, HPV16, HPV18, HPV06) DNA kopyaları olarak kantifiye edilmiştir. İnsan Periferik Kan Mononükleer Hücreleri (PBMC) hücre sayısı olarak kantifiye edilmiştir.

Tablo 9 Analitik özgüllük için test edilen mikroorganizmalar ve hücreler

İnsan adenovirüs tip 7	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Sitomegalovirüs (HHV5)	<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	<i>Moraxella lacunata</i>
Epstein-Barr virüsü (HHV4)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Varicella zoster</i> virüsü (HHV3)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> *
İnsan Herpes Virüsü 6A suş GS	<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycoplasma hominis</i> *
İnsan Herpes Virüsü 6B suş Z29	<i>Chlamydia trachomatis</i> H serotipi*	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
İnsan Herpes Virüsü 7 suş SB	<i>Chlamydia trachomatis</i> I serotipi	<i>Neisseria meningitidis</i>
İnsan herpes virüsü 8*	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
Ekovirüsü 11	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
Enterovirüs 71	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
HBV	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
HIV-1 suş IIIB	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
HIV-2 suş NIH-Z	<i>Enterococcus faecalis</i> vanB	<i>Streptococcus mitis</i>
HPV11	<i>Enterococcus faecium</i> vanA	<i>Streptococcus mutans</i>
HPV16	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
HPV18	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
HPV6	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
Rubella virüsü	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Treponema pallidum</i> *
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> alt türü <i>ozaenae</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PBMC (insan genomik DNA'sı)
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Herpes simplex</i> virüsü 1
<i>Candida albicans</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i> alt türü <i>curtisii</i>	<i>Herpes simplex</i> virüsü 2
<i>Candida glabrata</i>	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-

* İnsan Herpes Virüsü 8, $1,3 \times 10^4$ TCID₅₀ birim/mL'de test edilmiştir; *Chlamydia trachomatis* serotip H $1,9 \times 10^4$ IFU/mL'de test edilmiştir; *Mycoplasma genitalium* $1,0 \times 10^5$ CFU/mL'de test edilmiştir; *Mycoplasma hominis* $1,5 \times 10^4$ CFU/mL'de test edilmiştir; *Treponema pallidum* $9,0 \times 10^4$ kopya/mL'de test edilmiştir.

İnterferans

Yaygın olarak kullanılan yirmi reçetesiz ürün ve antiviral ilacın yanı sıra tam kan, insan serum albümini, idrar, dışkı ve müsin, **cobas®** HSV 1 and 2 Test ile potansiyel interferans etkileri açısından test edilmiştir. Tüm reçetesiz ürünler, bir anogenital lezyon numunesinde bir sürüntü çubuğuyla toplanması makul olarak beklenebilecek seviyelerde veya üzerinde (katılar için sürüntü çubuğu başına sırasıyla 20 mg veya 40 mg ve sıvılar için sürüntü çubuğu kapasitesinin %100'ü) test edilmiştir. Tüm antiviral ilaçlar alınan numunede $3 \times C_{\max}$ değerinde test edilmiştir. HSV-1 ve HSV-2, **cobas®** HSV 1 and 2 Testinin $\sim 3 \times \text{LoD}$ (Saptama Limiti) değerine kadar eklenmiştir ve testlerde hedef olarak kullanılmıştır.

Vagisil Crème (20 mg'da interferans gözlenmiştir) dışında reçetesiz ürünlerde interferans gözlenmemiştir. Tam kan için sürüntü çubuğu kapasitesinin %40'ına kadar interferans gözlenmemiştir; müsin için sürüntü çubuğu başına 4,8 mg'a kadar interferans gözlenmemiştir; idrar için sürüntü çubuğu kapasitesinin %100'üne kadar interferans gözlenmemiştir; dışkı için sürüntü çubuğu başına 1,6 mg'a kadar interferans gözlenmemiştir ve insan serum albümini için sürüntü çubuğu başına 16 mg'a kadar interferans gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, Tablo 10 içinde özetlenmiştir.

Tablo 10 Interferans oluşturan maddelerin test sonuçları

Madde	Yorum
Tam kan	Sürüntü çubuğu kapasitesinin %40'ına kadar interferans gözlenmemiştir
Müsin	Sürüntü çubuğu başına 4,8 mg'ye kadar interferans gözlenmemiştir
İdrar	İnterferans gözlenmemiştir
Dışkı	Sürüntü çubuğu başına 1,6 mg'ye kadar interferans gözlenmemiştir
İnsan serum albümini	Sürüntü çubuğu başına 16 mg'ye kadar interferans gözlenmemiştir
K-Y Marka Jel (Kişisel Kayganlaştırıcı)	İnterferans gözlenmemiştir
Gynol II (Kontraseptif jel)	İnterferans gözlenmemiştir
YeastGard Supozituarlar	İnterferans gözlenmemiştir
Monistat 1	İnterferans gözlenmemiştir
Monistat 3	İnterferans gözlenmemiştir
VagiStat 1	İnterferans gözlenmemiştir
Klotrimazol vajinal krem	İnterferans gözlenmemiştir
Preparation H Hemoroid Kremi	İnterferans gözlenmemiştir
Abreva soğuk algınlığı tedavisi	İnterferans gözlenmemiştir
Releev soğuk algınlığı tedavisi	İnterferans gözlenmemiştir
Asiklovir Krem	İnterferans gözlenmemiştir
Vagisil Crème	20 mg'de interferans gözlenmiştir*
Balneol Hijyenik Temizleme losyonu	20 mg'ye kadar interferans gözlenmemiştir*
Vagicaïne Kaşıntı Önleyici Krem	20 mg'ye kadar interferans gözlenmemiştir*
VH Essentials Douche	İnterferans gözlenmemiştir
Denavir	İnterferans gözlenmemiştir
Famsiklovir	İnterferans gözlenmemiştir
Valasiklovir	İnterferans gözlenmemiştir
Sidofovir	İnterferans gözlenmemiştir
Asiklovir	İnterferans gözlenmemiştir

* 20 mg, bir FLOQ sürüntü çubuğu tarafından doğrudan absorbe edilen tipik ortalama sıvı olmayan ürün miktarıdır.

Klinik numuneler kullanılarak klinik performans

cobas® HSV 1 and 2 Test'in performansı, FDA onaylı ve CE işaretli son teknoloji ürünü bir karşılaştırma amaçlı nükleik asit testi (NAAT) ile karşılaştırılmıştır. Çalışmaya kaydolun her hastadan iki anogenital sürüntü numunesi alınmıştır. **cobas®** HSV 1 and 2 Test için numune MSwab Collection, Transport and Preservation System ile, karşılaştırma testi için numune ise COPAN Universal Viral Transport System ile alınmıştır.

Amerika Birleşik Devletleri'nin çeşitli bölgelerinden toplam 370 anogenital lezyon sürüntü numunesi alınmış ve **cobas®** HSV-1 and 2 Test ve karşılaştırma testi ile test edilmiştir. **cobas®** HSV 1 and 2 Test ile 33 HSV-1 pozitif ve 147 HSV-2 pozitif numune bulunmuştur (prevalans: HSV-1 %8,9, HSV-2 %39,7). **cobas®** HSV 1 and 2 Test'in ve karşılaştırma amaçlı NAAT'nin uyumsuz çözünürlük olmadan performansı Tablo 11 içinde gösterilmiştir. **cobas®** HSV 1 and 2 Test ile karşılaştırma testi arasındaki uyumsuz sonuçlar sekanslama ile çözülmüştür. Uyumsuzluğun çözülmesinden sonra, **cobas®** HSV 1 and 2 Test'in hassasiyeti ve özgüllüğü tahmin edilmiş ve sonuçlar Tablo 12 içinde gösterilmiştir.

Tablo 11 cobas® HSV 1 and 2 Test ve karşılaştırma amaçlı Nükleik Asit Testi (NAAT)

HSV-1		Karşılaştırma amaçlı NAAT		
		Pozitif	Negatif	Toplam
cobas® HSV 1 and 2	Pozitif	31	2	33
	Negatif	1	336	337
	Toplam	32	338	370
		Tahmin	%95 1-tarafli alt CI	
Pozitif uyum yüzdesi		%96,9	%86,0	
Negatif uyum yüzdesi		%99,4	%98,1	

HSV-2		Karşılaştırma amaçlı NAAT		
		Pozitif	Negatif	Toplam
cobas® HSV 1 and 2	Pozitif	127	20	147
	Negatif	0	223	223
	Toplam	127	243	370
		Tahmin	%95 1-tarafli alt CI	
Pozitif uyum yüzdesi		%100	%97,7	
Negatif uyum yüzdesi		%91,8	%88,3	

Tablo 12 Uyumsuzluğun çözülmesinden sonra cobas® HSV-1 and 2 Test ve karşılaştırma amaçlı Nükleik Asit Testi (NAAT)

HSV-1		Karşılaştırma amaçlı NAAT		
		Pozitif	Negatif	Toplam
cobas® HSV 1 and 2	Pozitif	32	1	33
	Negatif	0	337	337
	Toplam	32	338	370
		Tahmin	%95 1- taraflı alt CI	
Hassasiyet*		%100	%91,1	
Özgüllük*		%99,7	%98,6	

HSV-2		Karşılaştırma amaçlı NAAT		
		Pozitif	Negatif	Toplam
cobas® HSV 1 and 2	Pozitif	141	5	146
	Negatif	0	223	223
	Toplam	141	228	369**
		Tahmin	%95 1- taraflı alt CI	
Hassasiyet*		%100	%97,9	
Özgüllük*		%97,8	%95,4	

* Uyumsuzluğu çözmek için yalnızca uyumsuz numuneler sekanslanmıştır.

** Sekanslama verilerine ulaşamayan bir uyumsuz numune analizden hariç tutulmuştur.

Sekanslama ile uyumsuzluğun giderilmesinden sonraki hassasiyet ve özgüllük tahminlerine dayanarak, cobas® HSV 1 and 2 Test'in çalışma numuneleri için gözlenen pozitif tahmin değerleri HSV-1 için %97,0 ve HSV-2 için %96,8'dir; gözlenen negatif tahmin değerleri ise HSV-1 ve HSV-2 için %100'dür.

Ek bilgiler

Temel test özellikleri

Numune tipi	Anogenital lezyon numuneleri
Gereken numune miktarı	Primer flakonda 1,6 mL MSwab ortamı, cobas® HSV 1 and 2 Test için minimum 700 µL gereklidir.
Test süresi	Sonuçlar, numunelerin sisteme yüklenmesinden sonra 2,5 saat içinde hazır olacaktır (1–22 numune).
Analitik hassasiyet	HSV-1 için 0,479 TCID ₅₀ birim/mL (MacIntyre suşu, ATCC VR-539); HSV-2 için 0,112 TCID ₅₀ birim/mL (G suşu, ATCC VR-734)
Özgüllük	71 yakından ilişkili organizma veya anogenital lezyon numunelerinde tipik olarak bulunan organizmalar ile çapraz reaktivite yok 1 × 10 ⁶ vp/mL HSV-1 varlığında yanlış pozitif HSV-2 yok; 1 × 10 ⁶ vp/mL HSV-2 varlığında yanlış pozitif HSV-1 yok.
Kapsayıcılık	5 HSV-1 suşu ve 4 HSV-2 suşu test edilmiştir

Semboller

Aşağıdaki semboller Roche PCR diagnostik ürünlerinin etiketlenmesinde kullanılır.

Tablo 13 Roche PCR diagnostik ürünlerinin etiketlenmesinde kullanılan semboller

Age/DOB Yaş veya doğum tarihi	 Hasta yanında test için uygun olmayan cihaz	QS IU/PCR PCR reaksiyonu başına QS IU, sonuçların hesaplanmasında PCR reaksiyonu başına QS ulusal birimlerini (IU) kullanın.
 Yardımcı yazılım	 Kendi kendine test için uygun olmayan cihaz	SN Seri numarası
Assigned Range [copies/mL] Atanan aralık (kopya/mL)	 Distribütör (Not: Sembolün altında geçerli ülke/bölge belirtilmiş olabilir)	Site Tesis
Assigned Range [IU/mL] Atanan aralık (IU/mL)	 Tekrar kullanmayın	Procedure Standard Standart prosedür
EC REP Avrupa Topluluğundaki yetkili temsilci	 Kadın	STERILE EO Etilen oksit ile sterilize edilmiştir
BARCODE Barkod Veri Sayfası	 Sadece IVD performans değerlendirmesi için	 Karanlık ortamda muhafaza edin
LOT Seri kodu	GTIN Küresel ticaret ürün numarası	 Sıcaklık sınırı
 Biyolojik riskler	 İthalatçı	 Test tanım dosyası
REF Katalog numarası	IVD <i>In vitro</i> tıbbi tanı cihazı	 Burası yukarı gelecek
 CE uygunluk işareti; bu cihaz, <i>in vitro</i> tıbbi tanı cihazı için geçerli CE işareti gerekliliklerine uygundur	LLR Belirlenen aralığın alt limiti	Procedure UltraSensitive Ultra hassas prosedür
Collect Date Numune alma tarihi	 Erkek	UDI Benzersiz cihaz tanımlayıcı
 Kullanım talimatlarına bakın	 Üretici	ULR Belirlenen aralığın üst limiti
 Σ <n> test için yeterli miktarda içerir	CONTROL - Negatif kontrol	Urine Fill Line İdrar dolum çizgisi
CONTENT Kit içeriği	 Steril değil	Rx Only Yalnızca ABD: Federal yasalar, bu cihazın yalnızca bir hekim tarafından veya hekimin siparişiyle satışına izin verir.
CONTROL Kontrol	 ? Hasta adı	 Son kullanma tarihi
 Üretim tarihi	 # Hasta numarası	
 Hasta yanında test için uygun cihaz	 Buradan soyarak açın	
 Kendi kendine test için uygun cihaz	CONTROL + Pozitif kontrol	
	QS copies / PCR PCR reaksiyonu başına QS kopya, sonuçların hesaplanmasında PCR reaksiyonu başına QS kopyalarını kullanın.	

Teknik destek

Teknik destek için lütfen yerel bağlı şirket ile iletişime geçin:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Üretici ve ithalatçı

Tablo 14 Üretici ve ithalatçı



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

ABD'de imal edilir



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Ticari markalar ve patentler

Bkz. <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Telif hakkı

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliyografya

1. Fatahzadeh M, Schwartz RA. Human herpes simplex virus infections: epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57(5):737-763; quiz 764-766.
2. Gupta R, Warren T, Wald A. Genital herpes. *Lancet*. 2007;370(9605):2127-2137.
3. Paz-Bailey G, Ramaswamy M, Hawkes SJ, Geretti AM. Herpes simplex virus type 2: epidemiology and management options in developing countries. *Sex Transm Infect*. 2007;83(1):16-22.
4. Xu F, Sternberg MR, Kottiri BJ, et al. Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA*. 2006;296(8):964-973.
5. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years--United States, 2005-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2010;59(15):456-459.
6. Langenberg AG, Corey L, Ashley RL, Leong WP, Straus SE. A prospective study of new infections with herpes simplex virus type 1 and type 2. Chiron HSV vaccine study group. *N Engl J Med*. 1999;341(19):1432-1438.
7. Lafferty WE, Coombs RW, Benedetti J, Critchlow C, Corey L. Recurrences after oral and genital herpes simplex virus infection. Influence of site of infection and viral type. *N Engl J Med*. 1987;316(23):1444-1449.
8. Engelberg R, Carrell D, Krantz E, Corey L, Wald A. Natural history of genital herpes simplex virus type 1 infection. *Sex Transm Dis*. 2003;30(2):174-177.
9. Benedetti J, Corey L, Ashley R. Recurrence rates in genital herpes after symptomatic first-episode infection. *Ann Intern Med*. 1994;121(11):847-854.
10. Ryan C, Kinghorn G. Clinical assessment of assays for diagnosis of herpes simplex infection. *Expert Rev Mol Diagn*. 2006;6(5):767-775.
11. Scoular A, Gillespie G, Carman WF. Polymerase chain reaction for diagnosis of genital herpes in a genitourinary medicine clinic. *Sex Transm Infect*. 2002;78(1):21-25.
12. Strick LB, Wald A. Diagnostics for herpes simplex virus: is PCR the new gold standard? *Mol Diagn Ther*. 2006;10(1):17-28.
13. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93(1):125-128.
14. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. CLSI document M29-A3 Villanova, PA. Approved guideline-third edition. 2005.
16. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations. 48th edition. 2007.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Viral Culture. CLSI document M41-A Wayne, PA. Approved guideline. 2006.

Belge revizyonu

Belge revizyonu bilgileri	
Doc. Rev. 4.0 02/2024	Kitlerin Lysis Kit 1 tehlike bilgileri güncellendi. Bağlantı da dahil olmak üzere Ticari markalar ve patentler bölümü güncellenmiştir. cobas® markası güncellendi. Herhangi bir sorunuz varsa lütfen Roche Temsilciniz ile iletişime geçin.

Güvenlik ve performans raporunun özeti, aşağıdaki bağlantı adresi kullanılarak bulunabilir: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>