

Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

Instruções de Utilização
Para diagnóstico *in vitro*
Exclusivamente para exportação dos EUA.

Informações gerais	2
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Resumo de segurança e desempenho	3
Advertências e precauções	4
Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes	6
Colheita e conservação de espécimes	6
Panther System	9
Reagentes e materiais fornecidos	9
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente	10
Procedimento de teste no Panther System	11
Notas sobre o procedimento	14
Controlo de qualidade	15
Interpretação dos testes	16
Limitações	17
Desempenho do ensaio analítico no Panther System	18
Meio de transporte viral (VTM)	18
Sensibilidade analítica	18
Verificação do LoD	18
Coinfecção	19
Reatividade cruzada	19
Interferência	20
Reprodutibilidade	22
HSV-2 labial artificial	23
Desempenho do ensaio clínico no Panther System	24
Desempenho clínico	24
Intervalo de referência e valores esperados	27
Bibliografia	30
Informações de contacto e histórico de revisões	31

Informações gerais

Utilização prevista

O Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 assay (Aptima HSV 1 & 2 assay) é um teste *in vitro* de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) em tempo real para a detecção e diferenciação qualitativas do RNA mensageiro (mRNA) do vírus herpes simples (HSV) tipo 1 (HSV-1) e tipo 2 (HSV-2) no Panther™ system.

O ensaio pode ser utilizado para testar esfregaços recolhidos pelo médico com origem em lesões cutâneas na região anogenital ou labial e colocá-los num meio de transporte viral (VTM) ou meio de transporte de espécimes Aptima (STM). O ensaio serve como auxiliar no diagnóstico de infeções por HSV-1 e/ou HSV-2 em pacientes sintomáticos do sexo masculino e feminino.

O dispositivo não se destina a ser utilizado com líquido cefalorraquidiano ou em rastreio pré-natal.

Resumo e explicação do teste

Os vírus herpes simplex tipo 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2) são vírus de DNA de cadeia dupla que pertencem à subfamília alpha herpesviridae. Embora o HSV-1 e HSV-2 estejam intimamente relacionados, eles são geneticamente e serologicamente distintos (1). Nos Estados Unidos, durante o período de 2005 a 2010 a seroprevalência do HSV-1 foi de 53,9% e a do HSV-2 foi de 15,7% (2).

O HSV-1 e HSV-2 infetam normalmente pele pavimentosa, bem como mucosa oral ou genital, provocando lesões dolorosas. Após uma fase sintomática inicial, os vírus estabelecem infeções latentes nos gânglios e nervos sensoriais sendo a causa de infeções incuráveis ao longo da vida nos seres humanos. Diversos fatores, tais como stress físico ou emocional, febre, luz ultravioleta e dano tecidual, podem causar reativação viral levando a lesões recorrentes ou derramamento assintomático (1, 3).

Embora tanto o HSV-1 como o HSV-2 possam infetar a mucosa genital e oral, o HSV-1 é responsável pela maioria das infeções não genitais. A infeção genital por HSV é uma das infeções sexualmente transmissíveis mais prevalentes nos Estados Unidos. Ainda que o HSV-2 continue a ser a causa mais comum do herpes genital, estudos recentes sugerem um aumento na incidência do HSV-1 induzida por herpes genital (4). As infeções genitais por HSV podem facilitar a aquisição e transmissão do HIV (5). Além disso, mulheres em fase final da gravidez com infeção genital por herpes HSV primária têm 50% de hipóteses de transmitir o vírus para o feto e estão em maior risco de aborto espontâneo e parto prematuro (6).

Uma elevada percentagem de infeções por HSV assintomáticas não são detetadas pelo paciente ou pelo médico (7). Por conseguinte, um diagnóstico preciso das infeções por HSV melhora o aconselhamento, conduz a um tratamento eficaz e reduz a transmissão (4).

Historicamente, as infeções por HSV eram diagnosticadas utilizando o processo em cultura viral seguido de tipagem do HSV com imunofluorescência. Estes procedimentos consistiam num trabalho intensivo e demorado. Os testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAATs) têm provado ser mais sensíveis do que os métodos em cultura e proporcionar um resultado muito mais rápido (4).

O Aptima HSV 1 & 2 assay é um NAAT desenvolvido para utilização no Panther system automatizado que utiliza captura de alvo, transcrição de amplificação mediada (TMA™), detecção em tempo real do HSV-1, HSV-2 e de um controlo interno (CI). O Aptima HSV 1 & 2 assay amplifica e deteta os mRNAs do HSV-1 e do HSV-2 (8). Estes RNAs manifestam-se a partir do genoma viral durante o ciclo de infeção, e são colocados dentro de partículas virais do HSV-1 e do HSV-2 antes da libertação de vírus de células infetadas (9). Desta forma, o Aptima HSV 1 & 2 assay, deteta células infetadas por vírus e as próprias partículas virais maduras.

Princípios do procedimento

O Aptima HSV 1 & 2 assay envolve três passos principais, os quais ocorrem num único tubo no Panther system: captura do alvo, amplificação do alvo por TMA e detecção dos produtos da amplificação através de sondas com marcadores fluorescentes (troches). O ensaio incorpora um CI em todos os testes para controlar a captação, amplificação e detecção do ácido nucleico pretendido.

Os espécimes são colhidos ou transferidos para um tubo com STM, o qual lisa as células, liberta o mRNA, e protege-o da degradação durante o armazenamento. Sempre que é executado um ensaio no Aptima HSV 1 & 2 assay, o mRNA alvo é isolado do espécime, utilizando oligómeros de captura ligados a micropartículas magnéticas. Os oligómeros de captura contêm sequências complementares para regiões específicas das moléculas alvo de mRNA do HSV, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Durante a fase de hibridação, a região de sequência específica do oligómero de captura ligam-se a regiões específicas da molécula alvo de mRNA do HSV. O complexo oligómero de captura:alvo é então capturado e retirado da solução reduzindo a temperatura da reação para a temperatura ambiente. Esta redução da temperatura permite que a hibridação ocorra entre a região da desoxiadenosina no oligómero de captura e as moléculas de polidesoxitimidina que estão ligadas de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo as moléculas alvo de mRNA do HSV capturadas ligadas às mesmas, são empurradas para a secção lateral do tubo de reação por ímanes e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover a matriz de espécime residual que possa conter inibidores da amplificação.

Após a captura do alvo estar concluída, o mRNA do HSV é amplificado com TMA, um método de amplificação de ácido nucleico com base em transcrição, que utiliza duas enzimas, a transcriptase reversa MMLV e a T7 RNA polimerase. A transcriptase reversa é utilizada para gerar uma cópia de DNA da sequência do mRNA alvo que contenha uma sequência de promotor da T7 RNA polimerase. A T7 RNA polimerase produz várias cópias do produto da amplificação do RNA a partir do modelo da cópia do DNA.

A detecção é conseguida utilizando torchs de ácidos nucleicos de cadeia simples, presentes durante a amplificação do alvo, e que se hibridam especificamente com o produto da amplificação em tempo real. Cada torch tem um fluoróforo e um agente de extinção. O agente de extinção suprime a fluorescência do fluoróforo, uma vez que se destina a estar em estreita proximidade quando não hibridada com o produto da amplificação. Quando o torch se liga ao produto da amplificação, o agente de extinção é ainda mais afastado do fluoróforo e emite um sinal num determinado comprimento de onda quando excitado por uma fonte de luz. Mais torchs hibridam quando mais produtos da amplificação estão presentes. O aumento em sinal de fluorescência com a amplificação progressiva é detetado por fluorómetros dentro do Panther system. O Panther system pode detetar e discriminar entre os três sinais fluorescentes correspondentes para HSV-1, HSV-2 e os produtos de amplificação de CI. A fluorescência (medida em unidades relativas de fluorescência [URF]) é monitorizada ao longo do tempo para produzir uma curva de emergência da fluorescência em tempo real para cada corante indicador. O Panther system software compara as curvas de emergência fluorescentes com os tempos limite fixos para comunicar os resultados (TTime) do HSV-1, HSV-2 e do CI.

Resumo de segurança e desempenho

O Resumo de segurança e desempenho (SSP, Summary of Safety and Performance) está disponível na base de dados europeia de dispositivos médicos (Eudamed), onde está associado aos identificadores do dispositivo (UDI-DI básico). Para localizar o SSP do Aptima Herpes Simplex Viruses 1&2 assay, consulte o Identificador único do dispositivo básico (BUDI): **54200455DIAGAPTHSV12S7**.

Advertências e precauções

- A. Para efeitos de diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. Para reduzir o risco de resultados inválidos, leia atentamente todo o folheto informativo e o *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System) antes de executar este ensaio.

Relacionadas com o laboratório

- D. Use somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- E. Tome todas as precauções laboratoriais de rotina. Não pipete com a boca. Evite comer, beber e fumar nas áreas de trabalho designadas. Use luvas sem pó descartáveis, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes de um kit. Lave bem as mãos depois de manusear os espécimes e os reagentes do kit.
- F. As superfícies de trabalho, as pipetas e outro equipamento devem ser regularmente descontaminados com solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M).
- G. Elimine todos os materiais que tenham estado em contacto com espécimes e reagentes de acordo com os regulamentos europeus, nacionais e locais (10, 11, 12, 13). Limpe e desinfete minuciosamente todas as superfícies de trabalho.

Relacionadas com os espécimes

- H. Os prazos de validade dos kits de transferência de espécimes são relativos à colheita/ transferência de espécimes e não aos testes dos espécimes. Os espécimes colhidos/ transferidos em qualquer data anterior a esses prazos de validade são válidos para serem testados, desde que tenham sido transportados e preservados de acordo com o folheto informativo, mesmo que o prazo de validade do tubo de transferência tenha sido ultrapassado.
- I. Os espécimes podem ser infecciosos. Utilize as precauções universais (10, 11, 12) quando executar este ensaio. Devem ser estabelecidos métodos de manuseamento e eliminação adequados de acordo com os regulamentos locais (13). Este procedimento só deve ser executado por pessoal com a devida qualificação na utilização do Aptima HSV 1 & 2 assay e no manuseamento de materiais infecciosos.
- J. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade do espécime. A estabilidade do espécime noutras condições de transporte que não as recomendadas não foi avaliada.
- K. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Tenha especial cuidado para evitar a contaminação por disseminação de aerossóis quando desapertar ou destapar espécimes. Os espécimes podem conter níveis de organismos extremamente elevados. Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entram em contacto uns com os outros e deite fora os materiais usados sem passá-los por cima de recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com o espécime.
- L. Após a perfuração, e sob determinadas condições, o líquido pode vazar das tampas dos tubos de transporte Aptima. Consulte o *Procedimento de teste* adequado para obter mais informações.
- M. Se o laboratório receber um tubo de colheita de espécimes de esfregaço Aptima Multitest sem zaragatoa, com duas zaragatoas ou com uma zaragatoa não fornecida pela Hologic, o espécime deve ser rejeitado.

Relacionadas com o ensaio

- N. Não troque, misture, nem combine reagentes do ensaio de kits com números de lote mestre diferentes. É possível trocar os controlos e os fluidos do ensaio.
- O. Evite a contaminação microbiana ou com nuclease dos reagentes.
- P. Tape e conserve todos os reagentes do ensaio às temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pela utilização de reagentes conservados de forma incorreta. Consulte as secções *Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes* e *Procedimento de teste no Panther System* para obter mais informações.
- Q. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos do ensaio sem instruções específicas para tal. Não adicione reagentes ou fluidos. O Panther system verifica os níveis dos reagentes.
- R. Alguns reagentes deste kit possuem símbolos de risco e segurança nos rótulos.

Nota: a informação sobre a comunicação de perigos reflete as classificações das Fichas de dados de segurança (SDS) da União Europeia. Para obter informações de comunicação de perigos específicas da sua região, consulte a respetiva Ficha de dados de segurança na Biblioteca de Fichas de Dados de Segurança em www.hologic.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informações sobre riscos para a UE	
—	<p>Enzyme Reagent <i>HEPES 1 - 5%</i></p> <p>H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 - Evitar a libertação para o ambiente P280 - Usar protecção ocular/protecção facial</p>
—	<p>Promoter Reagent <i>MAGNESIUM CHLORIDE 60 - 65%</i></p> <p>H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 - Evitar a libertação para o ambiente P280 - Usar protecção ocular/protecção facial</p>
—	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 5 - 10%</i> <i>EDTA 1 - 5%</i> <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 - 5%</i></p> <p>H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 - Evitar a libertação para o ambiente P280 - Usar protecção ocular/protecção facial</p>
—	<p>Amplification Reagent <i>MAGNESIUM CHLORIDE 60 - 65%</i></p> <p>H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 - Evitar a libertação para o ambiente P280 - Usar protecção ocular/protecção facial</p>

Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

- A. A tabela seguinte apresenta as condições de conservação e de estabilidade dos reagentes e dos controlos.

Reagente	Conservação fechada	Kit aberto (reconstituído)	
		Conservação	Estabilidade
Amplification Reagent	2 °C a 8 °C		
Amplification Reconstitution Solution	15 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ¹
Enzyme Reagent	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição enzimática	15 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ¹
Promoter Reagent	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição do promotor	15 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ¹
Target Capture Reagent	15 °C a 30 °C	15 °C a 30 °C ²	30 dias ¹
Controlo negativo	2 °C a 8 °C		Frasco de utilização única
Controlo positivo	2 °C a 8 °C		Frasco de utilização única
Controlo interno	2 °C a 8 °C		Frasco de utilização única

¹Sempre que os reagentes forem retirados do Panther system, deverão voltar imediatamente às respetivas temperaturas de conservação.

²Condições de conservação do reagente de captura do alvo de trabalho (reagente de captura de alvo com controlo interno adicionado).

- B. Descarte quaisquer reagentes reconstituídos, bem como o reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR, working Target Capture Reagent) não utilizados após 30 dias ou após a data de validade do lote mestre, conforme o que ocorrer primeiro.
- C. Os reagentes conservados dentro do Panther system têm 120 horas de estabilidade.
- D.  O Reagente Promotor e o Reagente Promotor reconstituído são fotossensíveis. Proteja estes reagentes da luz durante a sua conservação e a preparação para utilização.
- E. Evite a contaminação cruzada durante o manuseamento e conservação de reagentes. Tape todos os reagentes reconstituídos com novas tampas de reagente antes de os conservar.
- F. **Não congele os reagentes.**

Colheita e conservação de espécimes

Nota: manuseie todos os espécimes como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Respeite as precauções universais.

Nota: tenha cuidado para evitar a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento das amostras. Por exemplo, elimine o material usado sem passar por cima de tubos abertos.

Os esfregaços recolhidos pelo médico com origem em lesões anogenitais e labiais e colocados no STM ou no VTM podem ser utilizados.

As amostras das lesões podem ser recolhidas utilizando o seguinte:

- Kit de colheita de espécimes de esfregaço Aptima Multitest (para STM)
- Kit de colheita com VTM comercialmente disponível (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 e Remel M5)

A. Instruções de colheita

Consulte o folheto informativo do kit de colheita apropriado para obter as instruções de colheita específicas (Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit, para espécimes colhidos em STM ou Aptima Specimen Transfer Kit, para espécimes colhidos em VTM).

B. Transporte e conservação de espécimes antes do teste

1. Espécimes de esfregaço colhidos com o Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit
 - a. Transportar e conservar o espécime no tubo de transporte de espécimes de esfregaço Aptima a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C durante e até 60 dias após a colheita.
 - b. Se for necessário conservar os espécimes durante mais tempo, pode fazê-lo a uma temperatura de ≤ -20 °C até 90 dias após a colheita.
2. Esfregaços colhidos com o kit de colheita com VTM
 - a. Transportar e conservar o espécime dentro do tubo com VTM a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C durante e até 3 dias após a colheita.
 - b. Antes da realização dos ensaios com o Aptima HSV 1 & 2 assay, deverá transferir os espécimes colhidos com VTM para o tubo de transferência do Kit de transferência de espécimes Aptima que contém 2,9 ml de STM, de acordo com as instruções abaixo.
 - c. Preparação da área de transferência de espécimes
 - i. Calce luvas sem pó e limpas.
 - ii. Limpe as superfícies de trabalho e os pipetadores com 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M) de solução de hipoclorito de sódio.
 - iii. Permita que a solução de hipoclorito de sódio entre em contacto com as superfícies de trabalho e os pipetadores durante, pelo menos, 1 minuto e depois enxague com água DI (desionizada). Seque as superfícies com toalhas de papel limpas.
 - iv. Cubra a superfície da bancada com uma proteção limpa e absorvente com forro de plástico.
 - v. Na área de transferência de amostras, coloque um suporte de tubos de ensaio com o número suficiente de tubos de transferência de espécimes Aptima correspondente ao número de espécimes com VTM a serem testados.
 - vi. Rotule cada tubo de transferência de espécimes Aptima com o número de acesso ou ID do espécime.
 - d. Procedimento de transferência do espécime
 - i. Para reduzir o risco de contaminação com outros espécimes, trabalhe com um espécime VTM de cada vez.
 - ii. Calce as luvas sem pó e coloque os espécimes a serem testados numa área de transferência de espécimes que esteja limpa.
 - iii. Obtenha um espécime com VTM. Destape o tubo de transferência de espécimes Aptima correspondente, colocando a tampa na bancada voltada para cima.
 - iv. Coloque no vórtex o espécime com VTM durante 3 a 10 segundos. Destape o tubo, colocando a tampa na bancada voltada para cima.
 - v. Dentro de 1 minuto após o vórtex, pipete 0,5 ml do espécime com VTM para o tubo de transferência de espécimes Aptima, do Kit de transferência de espécimes Aptima, que contém 2,9 ml de STM.
 - vi. Retire a ponta da pipeta e coloque-a num recipiente com solução de hipoclorito de sódio a 0,5%.
 - vii. Volte a tapar o tubo de transferência de espécimes Aptima firmemente. Inverta cuidadosamente o tubo 2 a 3 vezes para assegurar que a mistura do espécime fica completa.

- viii. Se pretender, volte a tapar o tubo que contém os restantes espécimes com VTM para conservação a ≤ -70 °C.
 - ix. Repita os passos iii a viii para a transferência de espécimes subsequentes. Mude as luvas sem pó muitas vezes e especialmente se estiverem em contacto com o espécime.
 - e. Após transferência para um tubo de transferência de espécimes Aptima, estes podem ser transportados e conservados entre 2 °C a 30 °C durante e até 30 dias.
 - f. Ser for necessário uma conservação mais prolongada, congele os espécimes com VTM no tubo de transferência de espécimes Aptima a ≤ -20 °C até 90 dias.
- C. Acondicionamento de espécimes após o teste
1. Os espécimes testados devem ser acondicionados num suporte em posição vertical.
 2. Os tubos de espécimes devem ser cobertos com uma película de plástico nova e limpa ou com folha de alumínio.
 3. Se as amostras testadas tiverem de ser congeladas ou expedidas, retire a tampa perfurável e coloque novas tampas não perfuráveis nos tubos de transporte de espécimes. Se os espécimes tiverem de ser expedidos para serem testados noutra local, mantenha as temperaturas recomendadas.
 4. Antes de destapar os espécimes previamente testados e tapados, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420 para levar todo o líquido ao fundo do tubo. **Evite salpicos e contaminação cruzada.**

Nota: os espécimes devem ser expedidos de acordo com os regulamentos de transporte locais, nacionais e internacionais em vigor.

Panther System

Os reagentes do Aptima HSV 1 & 2 assay para o Panther system estão indicados abaixo. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados junto ao nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Kit Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

100 testes (2 caixas para ensaios e 1 kit de controlos) Cod. produto PRD-03568

Os controlos encontram-se disponíveis separadamente. Consulte o código de produto individual abaixo.

Caixa refrigerada do Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	Amplification Reagent <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada.</i>	1 frasco
E	Enzyme Reagent <i>Transcriptase reversa e polimerase de RNA liofilizadas em solução tamponada com HEPES.</i>	1 frasco
PRO	Promoter Reagent <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada.</i>	1 frasco
IC	Controlo interno <i>Ácidos nucleicos não infecciosos em solução tamponada.</i>	1 x 0,3 ml

Caixa à temperatura ambiente do Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (conservar a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
AR	Amplification Reconstitution Solution <i>Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Solução de reconstituição enzimática <i>Solução tamponada com HEPES com um agente tensoativo e glicerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Solução de reconstituição do promotor <i>Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Target Capture Reagent <i>Ácidos nucleicos numa solução salina tamponada que contém fase sólida, ácidos nucleicos não infecciosos.</i>	1 x 26,0 ml
	Aros de reconstituição	3
	Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre	1 folha

**Kit de controlos do Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (Cod. produto PRD-03569)
(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)**

Símbolo	Componente	Quantidade
CONTROLO –	Controlo negativo <i>Solução tamponada.</i>	5 x 2,7 ml
CONTROLO +	Controlo positivo <i>Ácidos nucleicos não infecciosos em solução tamponada.</i>	5 x 1,7 ml
	Folha do código de barras do controlo	1 folha

Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

Nota: os materiais com código de produto listados estão disponíveis na Hologic, salvo indicação em contrário.

Material	Código produto
Panther System	303095
Kit de execução Panther para ensaios em tempo real (apenas em tempo real)	PRD-03455 (5000 testes)
<i>Kit de fluidos do Aptima Assay (também conhecido como Kit de fluidos universais) contém solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima</i>	303014 (1000 testes)
Unidades multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de sacos de resíduos Panther	902731
Tampa do recipiente de resíduos Panther	504405
ou Kit de execução Panther	303096 (5000 testes)
<i>(para executar ensaios TMA em paralelo com ensaios TMA em tempo real) contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, detetores automáticos e fluidos de ensaio</i>	
Kit de fluidos Aptima Assay	303014 (1000 testes)
<i>(contém solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima)</i>	
Unidades multitubos (MTUs)	104772-02
Pontas, 1000 µl, com filtro, condutoras, deteção de líquido e descartáveis	901121 (10612513 Tecan)
<i>Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Kit de transferência de espécimes Aptima	301154C
<i>para utilização com espécimes colhidos com VTM</i>	
Kit de transferência de espécimes Aptima — imprimível	PRD-05110
<i>para utilização com espécimes colhidos com VTM</i>	
P1000 pontas	—
Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit	PRD-03546
Lixívia 5,0% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M) de solução de hipoclorito de sódio	—
Luvras sem pó descartáveis	—

Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de substituição para reagentes	—
<i>Soluções de reconstituição do reagente de amplificação, enzimático e promotor</i>	
TCR	CL0041 (100 tampas) 501604 (100 tampas)
Coberturas de bancada laboratorial com forro de plástico	—
Toalhetes que não larguem pelos	—
Pipetador	—
Pontas	—
Misturador vórtex	—

Materiais opcionais	Código produto
Dispositivo de agitação de tubos por oscilação	—

Procedimento de teste no Panther System

Nota: consulte o Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System para obter mais informações sobre o procedimento.

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho onde serão preparados os reagentes. Limpe as superfícies de trabalho com uma solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Permita que a solução de hipoclorito de sódio entre em contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto e depois enxague com água DI (desionizada). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada onde as amostras serão preparadas. Siga o procedimento supramencionado (passo A.1).
3. Cubra a superfície da bancada na qual vai preparar os reagentes e as amostras com uma proteção limpa e absorvente com forro de plástico.
4. Limpe as pipetas com 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M) de solução de hipoclorito de sódio. Permita que a solução de hipoclorito de sódio entre em contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto e depois enxague com água DI (desionizada). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio.

B. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

Nota: a reconstituição dos reagentes deve ser realizada antes de iniciar qualquer trabalho no Panther system.

1. Antes do teste, a amplificação, a enzima, e os reagentes promotores devem ser reconstituídos através da combinação dos conteúdos dos frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição adequada.
 - a. Permita que os reagentes liofilizados atinjam a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes da sua utilização.
 - b. Emparelhe cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado. Antes de fixar o aro de reconstituição, certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente possuem rótulos com símbolos correspondentes.

- c. Verifique os números do lote na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
- d. Abra o frasco do reagente liofilizado e insira firmemente a extremidade ranhurada do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 1).
- e. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
- f. Coloque o frasco da solução de reconstituição sobre a bancada e insira com firmeza a outra extremidade do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 2).
- g. Inverta lentamente os frascos preparados. Deixe passar a solução do frasco de plástico para o frasco de vidro (Figura 1, Passo 3).
- h. Agite gentilmente a solução no frasco para misturar. Evite formar espuma ao agitar o frasco (Figura 1, Passo 4).
- i. Aguarde pelo menos 15 minutos até que o reagente liofilizado entre na solução e, em seguida, inverta novamente os frascos preparados, inclinando-os num ângulo de 45° para reduzir ao mínimo a formação de espuma (Figura 1, Passo 5). Deixe passar o líquido todo novamente para o frasco de plástico.
- j. Retire o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 6).
- k. Volte a colocar a tampa do frasco de plástico. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).
- l. Descarte o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 8).

Advertência: evite formar espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível do Panther system.

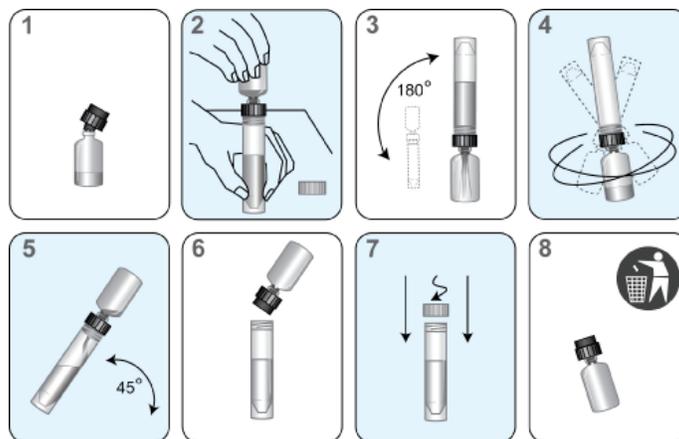


Figura 1. Processo de reconstituição dos reagentes

2. Prepare o reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR)
 - a. Emparelhe os frascos adequados de TCR e de IC.
 - b. Verifique os números de lote do reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que emparelhou os reagentes adequados do kit.
 - c. Abra o frasco de TCR e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - d. Abra o frasco de CI e deite o conteúdo completo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido poderá permanecer no frasco de IC.
 - e. Feche o frasco e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.

- f. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.
- g. Deite fora o frasco de IC e a tampa.

C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos

1. Os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda previamente preparados devem atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.

Opção: É permitida a mistura adicional dos reagentes de amplificação, enzimático e de sonda utilizando um agitador de tubos. Os reagentes podem ser misturados colocando o frasco de plástico tapado num agitador de tubos definido para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 25 minutos.

2. Se o wTCR contiver um precipitado, aqueça o mesmo à temperatura de 42 °C a 60 °C durante e até 90 minutos. Permita que o wTCR equilibre até à temperatura ambiente antes da sua utilização. Não utilize se o precipitado persistir.
3. Verifique se os reagentes não excederam os respetivos tempos de estabilidade durante a conservação, incluindo a estabilidade dentro do sistema.
4. Misture bem cada reagente, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite criar espuma quando inverter os reagentes. Este passo não é necessário se os reagentes forem carregados no sistema diretamente após a mistura no agitador de tubos.
5. Não ateste frascos de reagente. O Panther system reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.

Advertência: É necessário efetuar uma mistura adequada dos reagentes para obter os resultados esperados do ensaio.

D. Manuseamento de espécimes

1. Deixe os controlos e os espécimes alcançarem a temperatura ambiente antes de os processar.
2. **Não coloque as amostras no vórtex.**
3. Confirme visualmente se cada tubo com espécime cumpre um dos seguintes critérios:
 - a. Presença de uma única zaragatoa de colheita cor de rosa Aptima no tubo de colheita de espécimes de esfregaço Aptima Multitest.
 - b. Ausência de uma zaragatoa no tubo de transferência de espécimes Aptima para espécimes com VTM.
4. Inspeccione os tubos de espécimes antes de colocá-los no suporte:
 - a. Se um tubo de espécime tiver bolhas no espaço entre o líquido e a tampa, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para eliminar as bolhas.
 - b. Se um tubo de espécime tiver um volume inferior ao normalmente observado quando se seguem as instruções de colheita, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para garantir que o líquido não está retido na tampa.

Nota: o não cumprimento dos passos 4a–4b, poderá resultar numa descarga de líquido proveniente da tampa do tubo de espécime.

Nota: é possível testar um máximo de 4 alíquotas distintas de cada tubo de espécime. A tentativa de pipetar mais do que 4 alíquotas do tubo com espécime pode dar origem a erros de processamento.

E. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções do *Manual de instruções do Panther/ Panther Fusion System* e das *Notas sobre o procedimento*. Certifique-se de que são utilizados suportes de reagente e adaptadores de TCR de dimensão adequada.

Notas sobre o procedimento

A. Controlos

1. Os tubos de controlo positivo e negativo podem ser colocados no suporte em qualquer posição ou em qualquer corredor da zona de amostras do Panther system. A pipetagem de espécimes começa quando se verificar uma das 2 condições seguintes:
 - a. Os controlos estão atualmente a ser processados pelo sistema.
 - b. São registados resultados válidos para os controlos no sistema.
2. Após os tubos dos controlos serem pipetados e estarem a ser processados para um kit de reagentes específico, os espécimes do paciente podem ser testados com o kit associado até um período máximo de 24 horas **a menos que**:
 - a. Os resultados do controlo sejam inválidos.
 - b. O respetivo kit de reagente de ensaio seja retirado do sistema.
 - c. O respetivo kit de reagente de ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
3. Cada tubo de controlo só pode ser testado uma única vez. A tentativa de pipetar mais do que uma vez pode dar origem a erros de processamento.

B. Temperatura

A temperatura ambiente definida situa-se entre 15 °C e 30 °C.

C. Pó das luvas

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de pó em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. Recomenda-se a utilização de luvas sem pó.

Controlo de qualidade

A. Critérios de validade da execução

O software determina automaticamente a validade da execução. O software irá invalidar uma execução, se um ou ambos os controlos (negativos e positivos) apresentarem resultados inválidos.

Uma execução pode ser invalidada por um operador se tiverem sido observadas dificuldades técnicas, do operador ou do instrumento, durante a execução do ensaio e se estas estiverem documentadas.

Uma execução inválida deve ser repetida.

B. Validade do controlo

A Tabela 1 define os critérios de validade TTime para os controlos negativos e positivos.

Tabela 1: Critérios de validade TTime

	TTime do IC	HSV-1 TTime	HSV-2 TTime
Controlo negativo	≥ 7,0 e ≤ 40,0	-	-
Controlo positivo	≥ 7,0 e ≤ 53,0	≥ 3,0 e ≤ 35,0	≥ 3,0 e ≤ 35,0

Nota: as amostras com controlo de qualidade externo (não fornecidas) devem ser testadas em conformidade com os regulamentos locais, regionais e/ou nacionais ou os requisitos de certificação e os procedimentos de controlo de qualidade padrão de cada laboratório.

Nota: para obter assistência relativa a controlos fora do intervalo, contacte o suporte técnico da Hologic.

Nota: quando o TTime não puder ser calculado, será exibido um traço (-).

Interpretação dos testes

Os resultados dos testes são determinados automaticamente pelo software de ensaio. Os resultados para a deteção do HSV-1 e HSV-2 são apresentados separadamente. A Tabela 2 apresenta os possíveis resultados comunicados numa execução válida e a interpretação dos mesmos. As amostras com resultados de testes inválidos devem ser novamente testadas. Indique o primeiro resultado válido.

Tabela 2: Interpretação de resultados

Resultado HSV-1	Resultado HSV-2	Interpretação
HSV1 neg	HSV2 neg	Negativo: Nenhum mRNA do HSV-1 ou do HSV-2 detetado
HSV1 neg	HSV2 POS	HSV-2 positivo: mRNA do HSV-2 detetado
HSV1 POS	HSV2 neg	HSV-1 positivo: mRNA do HSV-1 detetado
HSV1 POS	HSV2 POS	HSV-1 e HSV-2 positivos: mRNA do HSV-1 e do HSV-2 detetado
Inválido	Inválido	Inválido: Ocorreu um erro na produção do resultado. O espécime deve ser novamente testado.

A Tabela 3 apresenta os critérios TTime para a determinação do resultado num espécime em particular. Um teste também pode ser inválido pelo facto de outros parâmetros estarem fora da faixa esperada.

Tabela 3: Critérios TTime

	TTime do IC	HSV-1 TTime	HSV-2 TTime
Negativo	≥ 7,0 e ≤ 45,0	-	-
HSV1 positivo	- ou ≥ 7,0 e ≤ 53,0	≥ 3,0 e ≤ 53,0	-
HSV2 negativo			
HSV1 negativo	- ou ≥ 7,0 e ≤ 53,0	-	≥ 3,0 e ≤ 53,0
HSV2 positivo			
HSV1 positivo	- ou ≥ 7,0 e ≤ 53,0	≥ 3,0 e ≤ 53,0	≥ 3,0 e ≤ 53,0
HSV2 positivo			
Inválido	-	-	-

Nota: quando o TTime não puder ser calculado, será exibido um traço (-).

Limitações

- A. A utilização deste ensaio está limitada a pessoal que tenha recebido formação relativa ao procedimento. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto informativo pode levar a resultados erróneos.
- B. A fiabilidade dos resultados depende da colheita, do transporte, da conservação e do processamento adequados dos espécimes.
- C. O dispositivo não se destina a ser utilizado com líquido cefalorraquidiano ou em rastreio pré-natal.
- D. Os resultados do Aptima HSV 1& 2 assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos de que o médico disponha.
- E. Um resultado negativo no Aptima HSV 1 & 2 assay não impede uma possível infeção porque os resultados dependem da colheita adequada de espécimes. Os resultados do ensaio podem ser afetados por uma colheita inadequada de espécimes, um erro técnico, pela fase clínica da lesão usada para amostra ou por níveis alvo inferiores ao limite de deteção do ensaio.

Desempenho do ensaio analítico no Panther System

Meio de transporte viral (VTM)

O desempenho do Aptima HSV 1 & 2 assay foi avaliado com os tipos de VTM mais utilizados (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 e Remel M5). Em cada meio foram adicionadas, separadamente, a estirpe MacIntyre do HSV-1 ou partículas virais da estirpe EM do HSV-2 a ~3X do Limite de Detecção (LoD). Cada painel foi depois transferido de acordo com as instruções do folheto informativo do STM. Para avaliar a potencial interferência de diferentes tipos de VTM, os painéis negativos para HSV (não aditivados) foram, também, diluídos em STM e testados em 40 réplicas por painel. Todos os painéis negativos foram 100% válidos e negativos e todos os painéis aditivados do HSV-1 ou HSV-2 foram 100% positivos para o tipo de HSV adequado.

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica/LoD do Aptima HSV 1 & 2 assay foi determinada, através da avaliação de uma série de painéis com os vírus HSV-1 ou HSV-2 diluídos em espécimes clínicos negativos reunidos em ambos STM e VTM diluídos em matrizes baseadas em STM. No HSV-1, as estirpes virais MacIntyre e HF também foram testadas. No HSV-2 foram testadas as estirpes EM e G. Pelo menos 60 réplicas foram testadas em cada concentração, para cada membro do painel, para cada matriz e para cada estirpe ao longo de 3 lotes de reagentes.

Foi realizada uma análise de regressão Probit para fornecer o limite de detecção de 95% do previsto para cada estirpe do HSV, em cada matriz e em cada lote. O LoD foi determinado como sendo a concentração, na qual $\geq 95\%$ de positividade de réplicas testadas é conseguida com base no maior cálculo entre os três lotes de reagentes.

Tabela 4: LoD do HSV 1 & 2 com VTM e STM

HSV Tipo/Estirpe	Tipo de espécime	LoD
		TCID ₅₀ /ml (Confiança de 95%)
HSV-1 MacIntyre	STM	60,6 (37,9 – 143,2)
	VTM	186,9 (148,1 – 266,5)
HSV-1 HF	STM	78,9 (47,7 – 195,3)
	VTM	159,3 (98,3 – 326,7)
HSV-2 EM	STM	18,2 (10,7 – 46,1)
	VTM	28,7 (15,6 – 105,6)
HSV-2 G	STM	18,8 (13,2 – 36,4)
	VTM	128,8 (57,8 – 584,2)

Verificação do LoD

O LoD foi verificado utilizando dois isolados clínicos do HSV-1 e dois do HSV-2, os quais foram isolados de espécimes clínicos positivos do HSV, em cultura e quantificados internamente. Cada isolado foi testado com o Aptima HSV 1 & 2 assay utilizando 60 réplicas, cada uma a 1X LoD, 3X LoD, e 10X LoD. O teste foi concluído em ambas as matrizes, STM e VTM, para todos os quatro isolados clínicos e foi elaborado utilizando 3 lotes de reagentes. Todas as réplicas para todos os isolados clínicos em todas as três concentrações testadas foram detetadas pelo Aptima HSV 1 & 2 assay, demonstrando que o ensaio pode detetar com precisão uma variedade de ambos os isolados do HSV-1 e do HSV-2 no LoD determinado.

Coinfecção

Foram elaborados painéis com partículas virais do HSV-1 a 3X LoD e vírus HSV-2 a 1000X LoD, e com HSV-2 a 3X LoD e HSV-1 a 1000X LoD. Foram elaborados painéis adicionais contendo HSV-2 na concentração de 100X do HSV-1 a 3X LoD. Todos os testes resultaram em detecção de 100% para HSV-1 e HSV-2.

Reatividade cruzada

Para avaliar a sensibilidade e a especificidade analíticas do Aptima HSV 1 & 2 assay na presença de micro-organismos não alvos que possam estar presentes em espécimes clínicos, foram elaborados painéis de microrganismos não alvos com STM com uma concentração de teste de 1×10^5 unidades/ml para vírus e 1×10^6 unidades/ml para todos os outros organismos. Foram testados organismos na ausência do HSV ou na presença de qualquer um do HSV-1 ou do HSV-2 a 3X LoD. Quarenta e sete dos 48 micróbios testados não tiveram qualquer efeito no desempenho do ensaio a 1×10^6 unidades/ml; o *Streptococcus pneumoniae* não mostrou qualquer interferência a 1×10^5 unidades/ml (Tabela 5).

Tabela 5: Especificidade analítica

Micro-organismo	Concentração
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Actinomyces israelii</i>	1×10^6 cópias de RNA/ml ²
Adenovírus tipo 1	1×10^5 TCID ₅₀ /ml ³
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1×10^6 CFU/ml ¹
<i>Atopobium vaginae</i>	1×10^6 cópias de RNA/ml ²
<i>Bacteroides fragilis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
Vírus BK	1×10^5 cópias de DNA/ml ³
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Candida glabrata</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Clostridium difficile</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Clostridium perfringens</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Enterococcus faecium</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
Vírus Epstein-Barr	1×10^5 cópias de DNA/ml ³
<i>Escherichia coli</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}

Tabela 5: Especificidade analítica (continuação)

Micro-organismo	Concentração
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
Vírus de hepatite B	1x10 ⁵ UI/ml ^{4,3}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ cópias de RNA/ml ²
<i>Mycoplasma orale</i>	1x10 ⁶ cópias de RNA/ml ²
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
Parvovírus B19	1x10 ⁵ TCID50/ml ³
<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus mitis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.000 CFU/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
Vírus varicela-zóster	1x10 ⁵ cópias de DNA/ml ³
Vírus do Nilo Ocidental	1x10 ⁵ TCID50/ml ³

¹CFU = unidades formadoras de colônias.

²Adquirido internamente na Hologic, Inc.

³Obtido da ZeptoMetrix Corporation (Buffalo NY).

⁴UI = unidades internacionais.

Interferência

As substâncias potencialmente interferentes apresentadas na Tabela 6 foram testadas no Aptima HSV 1 & 2 assay com concentrações iniciais de 5% vol/vol (V/V), equivalente a 100% da Capacidade de Esfregaço (SC); ou em concentrações de 0,03% ou 5% wt/vol (W/V); ou a 4 x 10⁵ células/ml para leucócitos. Foram elaborados painéis com STM e avaliados em função dos potenciais efeitos sobre a sensibilidade e especificidade do ensaio. O desempenho da sensibilidade foi avaliado separadamente, no HSV-1 e no HSV-2, adicionando partículas virais em painéis com substâncias a 3X do LoD. Os painéis negativos para HSV contendo todas as substâncias também foram avaliados quanto à especificidade.

Não se observou qualquer efeito no desempenho do ensaio na presença marcas representativas das seguintes substâncias exógenas em 5% W/V ou V/V (100% SC): lubrificante vaginal; creme antifúngico; duche; spray feminino; medicação para herpes labial; bálsamo labial; loção corporal; pó de talco; solução de lavagem com ácido acético glacial; creme para hemorroidas; supressor da tosse; pasta de dentes e elixir oral. O espermicida/gel contraceptivo não causaram qualquer interferência a uma concentração de 4% W/V ou 80% do SC. Não foi observada qualquer interferência na presença de marcas representativas da medicação antiviral a 5% W/V. Não se observou qualquer efeito sobre o desempenho do ensaio nas seguintes substâncias endógenas testadas a 5% V/V ou W/V (100% SC): urina, muco e fluido seminal. Não foi observada interferência nas seguintes substâncias endógenas nas concentrações finais indicadas: leucócitos (4×10^5 células/ml); saliva (4% W/V / 80% SC); proteína (4% W/V / 80% SC); sangue total (0,5% V/V / 10% SC); e fezes (0,03% W/V / 0,6% SC).

Tabela 6: Substâncias interferentes

Substância	Marca/Fonte	Concentração final*
Lubrificante vaginal	Gel KY	5% V/V
Espermicida/gel contraceptivo	Options Gynol II	4% W/V
Creme antifúngico	Monistat 3	5% W/V
Higiene íntima feminina	Up & Up Feminine Wash	5% V/V
Spray feminino	FDS Feminine Deodorant Spray	5% W/V
Medicação para herpes labial	Releev	5% W/V
Bálsamo labial	Carmex	5% W/V
Loção para o corpo	Vaseline Aloe Fresh	5% W/V
Pó de talco	Summer's Eve Powder	5% W/V
Solução de lavagem com ácido acético glacial	solução de lavagem com ácido acético glacial	5% V/V
Creme para hemorroidas	Preparation H	5% W/V
Urina	Colheita de urina internamente	5% V/V
Sangue total	Colheita de sangue total internamente	0,5% V/V
Leucócitos	Biological Specialty Corporation Leukocytes	4×10^5 células/ml
Saliva	Colheita de saliva internamente	4% W/V
Muco	Mucina Sigma Aldrich	0,3% W/V
Fluido seminal	Fluido seminal	5% V/V
Fezes	Fezes	0,03% W/V
Supressor da tosse	Dayquil	5% V/V
Pasta de dentes	Sensodine	5% W/V
Proteína	Casein	4% W/V
Fármaco antiviral	Aciclovir	5% W/V
Elixir oral	Listerene	5% V/V

*As concentrações finais representam a concentração final (FC) na amostra, quando testado no instrumento Panther. Em termos de SC da colheita, 5% FC = 100% SC; 4% FC = 80% SC; 0,5% FC = 10% SC; 0,03% FC = 0,6% SC.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do Aptima HSV 1 & 2 assay foi avaliada em três centros externos dos EUA. Realizaram-se testes com três lotes de reagentes do ensaio e seis operadores (dois em cada centro). Em cada centro, o teste foi realizado durante pelo menos seis dias. Foram criados membros do painel adicionando partículas virais do HSV-1 e/ou HSV- 2 no STM. As concentrações finais do HSV-1 variaram de 0 TCID₅₀/ml a 86,96 TCID₅₀/ml e as concentrações finais do HSV-2 variaram de 0 TCID₅₀/ml a 1,63 TCID₅₀/ml.

A robustez do Aptima HSV 1 & 2 assay foi avaliada testando os membros do painel negativos para HSV e membros do painel contendo níveis baixos a moderados do HSV-1 e HSV-2. A concordância com os resultados esperados foi de 100% para HSV-1 e HSV-2 nos membros negativos e positivos moderados do painel e ≤ 100% nos membros do painel com concentrações próximas ou abaixo do LoD de 95% do ensaio com STM aditivado com partículas virais.

A Tabela 7 apresenta concordância dos resultados do Aptima HSV 1 & 2 assay com os resultados esperados para todos os membros do painel.

Tabela 7: Concordância dos resultados Aptima HSV 1 & 2 Assay com os resultados esperados

Conc.		Conc Alvo (TCID ₅₀ /ml)		Resultado esperado		N	Concordaram (n)		Concordância (%) (CI de 95%)	
HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2		HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2
Neg	Neg	0	0	Neg	Neg	108	108	108	100 (96,6-100)	100 (96,6-100)
LPos	Neg	28,90	0	Pos	Neg	108	103	108	95,4 (89,6-98,0)	100 (96,6-100)
Neg	LPos	0	0,54	Neg	Pos	108	108	105	100 (96,6-100)	97,2 (92,1-99,1)
LPos	MPos	28,90	1,63	Pos	Pos	108	97	108	89,8 (82,7-94,2)	100 (96,6-100)
MPos	LPos	86,96	0,54	Pos	Pos	108	108	108	100 (96,6-100)	100 (96,6-100)
HNeg	Neg	3,00	0	Pos	Neg	108	50	108	46,3 (37,2-55,7)	100 (96,6-100)
Neg	HNeg	0	0,20	Neg	Pos	108	108	86	100 (96,6-100)	79,6 (71,1-86,1)

CI = Pontuação do intervalo de confiança, Conc = concentração, HNeg = negativo alto, LPos = positivo baixo, MPos = positivo moderado, Neg = negativo, Pos = positivo.

A Tabela 8 apresenta a variabilidade do sinal do HSV-1 e do HSV-2 em membros positivos baixos e moderados do painel entre os centros, entre operadores, entre os lotes, entre os dias, entre as execuções, dentro das execuções, e globalmente em membros do painel com resultados positivos no Aptima HSV 1 & 2 assay.

Tabela 8: Variabilidade de sinal do Aptima HSV 1 & 2 Assay em membros positivos baixos e moderados do painel

Vírus	Conc.	N	Média TTime	Entre	Entre	Entre	Entre	Entre	Dentro da	Total
				centros	operadores	Lotes	dias	execuções	execuções	
				DP	DP	DP	DP	DP	DP	DP
				(%CV)	(%CV)	(%CV)	(%CV)	(%CV)	(%CV)	(%CV)
HSV-1	LPos	103	24,68	0 (0)	0,23 (0,95)	1,63 (6,62)	0,71 (2,89)	0,54 (2,18)	0,88 (3,55)	2,07 (8,40)
	LPos	97	23,91	0 (0)	0 (0)	2,18 (9,11)	0,86 (3,58)	0 (0)	1,60 (6,71)	2,84 (11,87)
	MPos	108	22,96	0 (0)	0,22 (0,97)	1,54 (6,69)	0,31 (1,34)	0,68 (2,96)	0,94 (4,11)	1,96 (8,55)
HSV-2	LPos	105	25,49	0 (0)	0,70 (2,74)	0,84 (3,30)	0 (0)	0 (0)	2,52 (9,87)	2,74 (10,76)
	LPos	108	25,34	0 (0)	0 (0)	1,54 (6,08)	0,86 (3,41)	0,59 (2,34)	2,67 (10,53)	3,26 (12,85)
	MPos	108	22,91	0 (0)	0 (0)	1,09 (4,76)	0,35 (1,53)	0,42 (1,83)	1,06 (4,64)	1,62 (7,07)

Conc = concentração, CV = coeficiente de variação, LPos = positivo baixo, MPos = positivo moderado, DP = desvio padrão.

Nota: a variabilidade derivada de alguns fatores pode ser numericamente negativa. Tal ocorreu quando a variabilidade devido a esses fatores foi muito pequena. Nesses casos, o DP e o CV são mostrados como 0.

HSV-2 labial artificial

O teste do Aptima HSV 1 & 2 assay foi realizado utilizando uma matriz de espécime clínico artificial para fornecer dados de desempenho adicionais na detecção do HSV-2 em amostras labiais. Foram adicionadas partículas virais da estirpe EM do HSV-2 no VTM negativo para HSV ou matrizes clínicas labiais com STM a 3X do LoD ou 1000X do LoD, em cada um dos respectivos meios. Foram testadas quinze réplicas de amostras negativas para HSV, vinte e cinco réplicas do HSV-2 a 3X LoD, e vinte e cinco réplicas do HSV-2 a 1000X LoD para ambas as matrizes com VTM e STM por operadores, que desconheciam o conteúdo do painel. Os resultados mostraram 100% de detecção do HSV-2 contendo painéis artificiais labiais positivos e 0% de detecção em todas as amostras negativas em ambas as matrizes clínicas com STM e VTM.

Desempenho do ensaio clínico no Panther System

Desempenho clínico

Foi realizado um estudo clínico multicêntrico prospectivo para estabelecer as características de desempenho do Aptima HSV 1 & 2 assay. Indivíduos do sexo masculino e feminino (n = 839) com lesões cutâneas ativas nas regiões anogenital¹ ou labial² foram incluídos em 19 centros clínicos nos EUA, incluindo planejamento familiar, dermatologia, pediatria/adolescentes, infecções sexualmente transmissíveis, medicina privada e, ainda, centros de saúde, hospitais, universidades e centros de investigação médica. Foram recolhidos dois (2) esfregaços de apenas uma lesão de cada indivíduo: um deles com uma zaragatoa de um kit de colheita com VTM, comercialmente disponível, e o outro com uma zaragatoa do Kit de colheita de esfregaço Aptima Multitest. Os espécimes foram processados de acordo com as instruções do folheto informativo apropriadas e testados por meio de cultura viral com o ELVIS HSV ID e o sistema D³ Typing Test, utilizando um procedimento da PCR/sequenciação para definir a interpretação do método de referência composto para HSV-1 e HSV-2. A interpretação do método de referência composto foi considerada: A) positiva, se tanto o meio de cultura viral como o ELVIS HSV ID e o sistema D³ Typing Test ou a PCR/sequenciação foram positivos para o tipo de HSV (HSV-1 ou HSV-2) e B) negativa, se a PCR/sequenciação foi negativa para um tipo de HSV e o meio de cultura viral com o ELVIS HSV ID e o sistema D³ Typing Test foi negativo (ou positivo para o outro tipo de³). Os espécimes foram testados com um ensaio aprovado pela FDA para o HSV-1 e o HSV-2 para definir o tipo de HSV quando: A) A PCR/sequenciação detetou tanto o HSV-1 como o HSV-2 e B) os resultados combinados dos testes do método de referência composto foram positivos para ambos os tipos de HSV.

O desempenho clínico do Aptima HSV 1 & 2 assay na detecção do HSV-1 e do HSV-2 foi avaliado em espécimes/amostras recolhidos de lesões nas regiões anogenital e labial. O teste do Aptima HSV 1 & 2 assay foi realizado em 3 laboratórios externos. Foram geradas 108 execuções de ensaio com o Aptima HSV 1 & 2 assay; 107 (99,1%) execuções foram válidas e 1 (0,9%) foi inválida devido a um erro de hardware. Havia 1629 amostras processadas em execuções de ensaio válidas com o Aptima HSV 1 & 2 assay; 1628 (99,9%) tiveram resultados finais válidos e 1 (0,1%) teve um resultado final inválido devido a um erro de hardware (esta amostra não foi testada novamente por não ter volume suficiente). Houve 7 amostras (0,4%) com resultados iniciais inválidos; das quais, 6 foram novamente testadas e apresentaram resultados válidos.

No total, 790 indivíduos (285 homens e 505 mulheres) foram avaliados para inclusão nas análises de desempenho; 544 com lesões na região anogenital e 246 com lesões na região labial.

Em geral, na detecção do HSV-1 e HSV-2 em espécimes/amostras recolhidos de lesões na região anogenital, a sensibilidade variou de 93,4% para 98,4% e a especificidade variou de 92,8% para 99,8% (Tabela 9 e Tabela 10).

A Tabela 9 apresenta a sensibilidade, a especificidade, o valor preditivo positivo (PPV) e o valor preditivo negativo (NPV) do Aptima HSV 1 & 2 assay na detecção do HSV-1, e a prevalência do HSV-1 (com base no método de referência composto) em lesões anogenitais para cada tipo de amostra.

1 Inclui abdômen, ânus, nádegas, colo do útero, prepúcio, glândula do pênis/Balanus, virilha, mons púbis, pênis (eixo), área perianal, períneo, reto, escroto, coxas uretra/orifício uretral, vagina, área vulvar e outros.

2 Inclui gengivas, lábios, boca, língua e outros.

3 O ELVIS HSV ID e o sistema D³ Typing Test não conseguem detetar os espécimes co-infetados. Apenas os espécimes negativos para HSV-2 podem ser tipados para HSV-1.

Tabela 9: Desempenho clínico do Aptima HSV 1 & 2 Assay na Detecção de HSV-1 em lesões anogenitais por tipo de espécime

Tipo de espécime	Localização da lesão	N	PV	PF	NV	NF	Prev (%)	Sensibilidade % (CI de 95%) ³	Especificidade % (CI de 95%) ³	VPP % (CI de 95%) ⁴	VPN % (CI de 95%) ⁴
VTM	Anogenital	528	71	1	451	5 ¹	14,4	93,4 (85,5-97,2)	99,8 (98,8->99,9)	98,6 (93,0-100)	98,9 (97,6-99,6)
	Anogenital masculino	192	19	1	170	2	10,9	90,5 (71,1-97,3)	99,4 (96,8-99,9)	95,0 (78,6-99,8)	98,8 (96,4-99,9)
	Anogenital feminino	336	52	0	281	3	16,4	94,5 (85,1-98,1)	100 (98,7-100)	100 (93,7-100)	98,9 (97,1-99,8)
Esfregaço Aptima com STM	Anogenital	531	71	2	454	4 ²	14,1	94,7 (87,1-97,9)	99,6 (98,4-99,9)	97,3 (91,1-99,6)	99,1 (97,9-99,8)
	Anogenital masculino	192	20	2	169	1	10,9	95,2 (77,3-99,2)	98,8 (95,8-99,7)	90,9 (74,5-98,7)	99,4 (97,2-100)
	Anogenital feminino	339	51	0	285	3	15,9	94,4 (84,9-98,1)	100 (98,7-100)	100 (93,6-100)	99,0 (97,2-99,8)

Esfregaço Aptima com STM = esfregaço Aptima Multitest, Prev = prevalência, VTM = amostra com VTM.

¹Duas amostras apresentaram resultados negativos em cultura e uma apresentou um resultado positivo em cultura para HSV, não tipável.

²Um espécime apresentou um resultado negativo em cultura e outro espécime um resultado positivo em cultura para HSV, não tipável.

³Pontuação CI.

⁴CI de 95% do PPV calculado a partir do CI de 95% exato para a relação de probabilidade positiva, CI de 95% do NPV calculado a partir do CI de 95% exato da relação de probabilidade negativa.

A Tabela 10 apresenta a sensibilidade, a especificidade e o PPV e NPV do Aptima HSV 1 & 2 assay na detecção do HSV-2, e a prevalência do HSV-2 (com base no método de referência composto) em lesões anogenitais para cada tipo de amostra.

Tabela 10: Desempenho clínico do Aptima HSV 1 & 2 Assay na Detecção de HSV-2 em lesões anogenitais por tipo de espécime

Tipo de espécime	Localização da lesão	N	PV	PF	NV	NF	Prev (%)	Sensibilidade % (CI de 95%) ³	Especificidade % (CI de 95%) ³	VPP % (CI de 95%) ⁴	VPN % (CI de 95%) ⁴
VTM	Anogenital	533	248	7	270	8 ¹	48,0	96,9 (94,0-98,4)	97,5 (94,9-98,8)	97,3 (94,7-98,8)	97,1 (94,6-98,7)
	Anogenital masculino	194	79	2	110	3	42,3	96,3 (89,8-98,7)	98,2 (93,7-99,5)	97,5 (92,0-99,7)	97,3 (93,0-99,4)
	Anogenital feminino	339	169	5	160	5	51,3	97,1 (93,5-98,8)	97,0 (93,1-98,7)	97,1 (93,8-99,0)	97,0 (93,4-99,0)
Esfregaço Aptima com STM	Anogenital	535	253	20	258	4 ²	48,0	98,4 (96,1-99,4)	92,8 (89,1-95,3)	92,7 (89,4-95,3)	98,5 (96,3-99,6)
	Anogenital masculino	194	79	6	106	3	42,3	96,3 (89,8-98,7)	94,6 (88,8-97,5)	92,9 (86,5-97,1)	97,2 (92,8-99,4)
	Anogenital feminino	341	174	14	152	1	51,3	99,4 (96,8-99,9)	91,6 (86,3-94,9)	92,6 (88,5-95,7)	99,3 (96,6-100)

Esfregaço Aptima com STM = esfregaço Aptima Multitest, Prev = prevalência, VTM = amostra com VTM.

¹Todas as oito amostras tiveram resultados negativos em cultura.

²Todos os quatro espécimes tiveram resultados negativos em cultura.

³Pontuação CI.

⁴CI de 95% do PPV calculado a partir do CI de 95% exato para a relação de probabilidade positiva, CI de 95% do NPV calculado a partir do CI de 95% exato da relação de probabilidade negativa.

A Tabela 11 apresenta a sensibilidade, a especificidade e o PPV e NPV do Aptima HSV 1 & 2 assay na detecção do HSV-1, e a prevalência do HSV-1 (com base no método de referência composto) em lesões labiais para cada tipo de amostra. A sensibilidade na detecção do HSV-1 em espécimes/amostras recolhidas da região labial foi de 97,5% em esfregaços Aptima Multitest e 81,5% em amostras com VTM. Das 22 amostras com VTM com resultados falsos negativos para HSV-1, 19 apresentaram resultados negativos em cultura. A especificidade na detecção do HSV-1 foi de 88,7% em esfregaços Aptima Multitest e 99,2% em amostras com VTM. Nove (9) dos 14 esfregaços Aptima Multitest com resultados falsos positivos eram provenientes de 2 dos 17 centros de colheita e de espécimes de lesões labiais.

Tabela 11: Desempenho clínico do Aptima HSV 1 & 2 Assay na detecção de HSV-1 em lesões labiais por tipo de espécime

Tipo de espécime	N	PV	PF	NV	NF	Prev (%)	Sensibilidade % (CI de 95%) ³	Especificidade % (CI de 95%) ³	VPP % (CI de 95%) ⁴	VPN % (CI de 95%) ⁴
VTM	241	97	1	121	22 ¹	49,4	81,5 (73,6-87,5)	99,2 (95,5-99,9)	99,0 (95,0-100)	84,6 (79,3-89,3)
Esfregaço Aptima com STM	243	116	14	110	3 ²	49,0	97,5 (92,8-99,1)	88,7 (81,9-93,2)	89,2 (83,9-93,5)	97,3 (93,1-99,4)

Esfregaço Aptima com STM = esfregaço Aptima Multitest, Prev = prevalência, VTM = amostra com VTM.

¹Dezanove amostras apresentaram resultados negativos em cultura e uma apresentou resultado positivo em cultura para HSV, não tipável.

²Todos os três espécimes tiveram resultados negativos em cultura.

³Pontuação CI.

⁴CI de 95% do PPV calculado a partir do CI de 95% exato para a relação de probabilidade positiva, CI de 95% do NPV calculado a partir do CI de 95% exato da relação de probabilidade negativa.

Como a maioria das infecções labiais por HSV são causadas por HSV-1, a prevalência de infecções por HSV-2 observadas na região labial foi bastante baixa (0,9% a 1,3%) (Tabela 12). De 235 amostras com VTM e 237 esfregaços Aptima Multitest, apenas 2 amostras com VTM e 3 esfregaços Aptima Multitest tiveram resultados positivos com base em testes de referência. A sensibilidade na detecção do HSV-2 em espécimes/amostras recolhidas da região labial foi de 66,7% em esfregaços Aptima Multitest e 100% em amostras com VTM. Uma das amostras recolhidas pelo Aptima Multitest proveniente de uma lesão labial com um resultado falso negativo teve um resultado negativo em cultura. Tal como descrito acima, a sensibilidade analítica na detecção do HSV-2 utilizando espécimes artificiais da região labial foi de 100%. A especificidade na detecção do HSV-2 foi de 100% em esfregaços Aptima Multitest e 100% em amostras com VTM.

A Tabela 12 apresenta a sensibilidade, a especificidade e o PPV e NPV do Aptima HSV 1 & 2 assay na detecção do HSV-2, e a prevalência do HSV-2 (com base no método de referência composto) em lesões labiais para cada tipo de amostra.

Tabela 12: Desempenho clínico do Aptima HSV 1 & 2 Assay na detecção de HSV-2 em lesões labiais por tipo de espécime

Tipo de espécime	N	PV	PF	NV	NF	Prev (%)	Sensibilidade % (CI de 95%) ²	Especificidade % (CI de 95%) ²	VPP % (CI de 95%) ³	VPN % (CI de 95%) ³
VTM	235	2	0	233	0	0,9	100 (34,2-100)	100 (98,4-100)	100 (30,1-100)	100 (99,3-100)
Esfregaço Aptima com STM	237	2	0	234	1 ¹	1,3	66,7 (20,8-93,9)	100 (98,4-100)	100 (29,1-100)	99,6 (98,9-100)

Esfregaço Aptima com STM = esfregaço Aptima Multitest, Prev = prevalência, VTM = amostra com VTM.

¹Esta amostra teve um resultado negativo em cultura.

²Pontuação CI.

³CI de 95% do PPV calculado a partir do CI de 95% exato para a relação de probabilidade positiva, CI de 95% do NPV calculado a partir do CI de 95% exato da relação de probabilidade negativa.

Intervalo de referência e valores esperados

Prevalência

A prevalência do HSV-1 e HSV-2 em diferentes populações depende de fatores de risco dos pacientes, tais como a idade, o estilo de vida e a sensibilidade do teste na detecção da infecção. A Tabela 13 apresenta um resumo da prevalência do HSV-1 e HSV-2, por tipo de amostra e grupo etário, tal como determinado pelo Aptima HSV 1 & 2 assay no estudo de desempenho clínico.

Tabela 13: Positividade do Aptima HSV 1 & 2 Assay por categoria da localização da lesão e grupo etário¹

Localização da lesão Grupo etário	%Prevalência (# positivo/# testado)			
	Amostra com VTM		Espécimes de esfregaço Aptima Multitest	
	HSV-1 Positivo	HSV-2 Positivo	HSV-1 Positivo	HSV-2 Positivo
Todos os locais de lesão				
Todas as idades	21,9 (170/778)	33,0 (257/778)	26,0 (203/782)	35,3 (276/782)
< 2 anos	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)
2 a 11 anos	30,8 (4/13)	0,0 (0/13)	50,0 (7/14)	0,0 (0/14)
12 a 21 anos	21,5 (23/107)	40,2 (43/107)	24,8 (27/109)	42,2 (46/109)
22 a 30 anos	18,9 (63/334)	36,8 (123/334)	21,4 (72/337)	39,5 (133/337)
31 a 40 anos	20,7 (30/145)	33,8 (49/145)	27,3 (39/143)	35,7 (51/143)
41 a 50 anos	22,7 (17/75)	26,7 (20/75)	25,7 (19/74)	28,4 (21/74)
51 a 60 anos	30,9 (21/68)	22,1 (15/68)	37,7 (26/69)	24,6 (17/69)
> 60 anos	32,3 (10/31)	22,6 (7/31)	35,5 (11/31)	25,8 (8/31)
Lesões anogenitais				
Todas as idades	13,4 (72/537)	47,5 (255/537)	13,5 (73/539)	50,8 (274/539)
< 2 anos	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
2 a 11 anos	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
12 a 21 anos	20,7 (17/82)	52,4 (43/82)	20,2 (17/84)	54,8 (46/84)
22 a 30 anos	14,2 (38/268)	45,5 (122/268)	14,4 (39/270)	48,9 (132/270)
31 a 40 anos	11,5 (12/104)	47,1 (49/104)	12,6 (13/103)	49,5 (51/103)
41 a 50 anos	9,1 (4/44)	45,5 (20/44)	4,8 (2/42)	50,0 (21/42)
51 a 60 anos	3,7 (1/27)	51,9 (14/27)	7,1 (2/28)	57,1 (16/28)
> 60 anos	0,0 (0/10)	70,0 (7/10)	0,0 (0/10)	80,0 (8/10)
Lesões labiais				
Todas as idades	40,7 (98/241)	0,8 (2/241)	53,5 (130/243)	0,8 (2/243)
< 2 anos	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)
2 a 11 anos	33,3 (4/12)	0,0 (0/12)	53,8 (7/13)	0,0 (0/13)
12 a 21 anos	24,0 (6/25)	0,0 (0/25)	40,0 (10/25)	0,0 (0/25)
22 a 30 anos	37,9 (25/66)	1,5 (1/66)	49,3 (33/67)	1,5 (1/67)
31 a 40 anos	43,9 (18/41)	0,0 (0/41)	65,0 (26/40)	0,0 (0/40)
41 a 50 anos	41,9 (13/31)	0,0 (0/31)	53,1 (17/32)	0,0 (0/32)
51 a 60 anos	48,8 (20/41)	2,4 (1/41)	58,5 (24/41)	2,4 (1/41)
> 60 anos	47,6 (10/21)	0,0 (0/21)	52,4 (11/21)	0,0 (0/21)

¹Nenhum indivíduo foi positivo nos resultados do Aptima HSV 1 & 2 assay, tanto para HSV-1 como para HSV-2.

Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas

A Tabela 14 apresenta os valores preditivos positivos e negativos (PPV e NPV) estimados com o Aptima HSV 1 & 2 assay na detecção do HSV-1 e HSV-2 em diferentes taxas de prevalência hipotéticas para cada tipo de espécime. Estes cálculos baseiam-se na sensibilidade e na especificidade globais calculadas para cada tipo de espécime, tal como foi determinado no estudo de desempenho clínico.

Tabela 14: PPV e NPV hipotéticos na detecção do HSV-1 e HSV-2 por categoria do tipo de espécime e localização da lesão

Tipo de espécime	Localização da lesão	Prevalência (%)	HSV-1		HSV-2	
			VPP (%)	VPN (%)	VPP (%)	VPN (%)
Amostra com VTM	Anogenital	1	81,0	99,9	27,9	100
		2	89,6	99,9	43,9	99,9
		5	95,7	99,7	66,9	99,8
		10	97,9	99,3	81,0	99,6
		20	99,1	98,4	90,6	99,2
		30	99,5	97,3	94,3	98,6
		40	99,6	95,8	96,2	97,9
	Labial	1	50,1	99,8	100	100
		2	67,0	99,6	100	100
		5	84,0	99,0	100	100
		10	91,7	98,0	100	100
		20	96,1	95,5	100	100
		30	97,7	92,6	100	100
		40	98,5	88,9	100	100
Esfregaço Aptima com STM	Anogenital	1	68,6	99,9	12,1	100
		2	81,5	99,9	21,8	100
		5	91,9	99,7	41,9	99,9
		10	96,0	99,4	60,3	99,8
		20	98,2	98,7	77,4	99,6
		30	98,9	97,8	85,4	99,3
		40	99,3	96,6	90,1	98,9
	Labial	1	8,0	100	100	99,7
		2	15,0	99,9	100	99,3
		5	31,2	99,9	100	98,3
		10	49,0	99,7	100	96,4
		20	68,3	99,3	100	92,3
		30	78,7	98,8	100	87,5
		40	85,2	98,1	100	81,8
50	89,6	97,2	100	75,0		

Esfregaço Aptima com STM = esfregaço Aptima Multitest, VTM = amostra com VTM.

Distribuição TTime para os controlos positivos do Aptima HSV 1 & 2 Assay

A Tabela 15 apresenta a distribuição dos valores TTime para o controlo positivo Aptima HSV 1 & 2 assay a partir de todas as execuções de ensaio Aptima HSV 1 & 2 assay válidas, realizadas durante o estudo de desempenho clínico.

Tabela 15: Distribuição do TTime para os controlos positivos do Aptima HSV 1 & 2 Assay

Controlos positivos

Estatísticas	TTime	
	HSV-1	HSV-2
N	107	107
Média	20,03	22,01
Mediana	19,8	21,7
DP	1,198	1,612
CV (%)	6,0	7,3
Mínima	18,1	19,5
Máxima	22,9	26,2

CV = coeficiente de variação, DP = desvio padrão.

Bibliografia

1. **Gupta R., T. Warren, A. Wald.** 2007. Genital Herpes. *The Lancet* 370: 2127-2137.
2. **Bradley H., L. Markowitz, T. Gibson, G. McQuillan.** 2014. Seroprevalence of Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 United States, 1999-2010. *Journal of Infectious Diseases (JID)* 209: 325-333.
3. **Whitley R., B. Roizman.** 2001. Herpes Simplex Virus Infections. *The Lancet* 357: 1513-1518.
4. **LeGoff J., H. Péré, L. Bélec.** 2014. Diagnosis of Genital Herpes Simplex Virus Infection in the Clinical Laboratory. *Virology Journal* 11: 83-99.
5. **Wald A., K. Link.** 2002. Risk of Human Immunodeficiency Virus Infection in Herpes Simplex Virus Type 2- Seropositive Persons: A Meta-Analysis. *Journal of Infectious Diseases (JID)* 185: 45-52.
6. **Brown A., A. Wald, R. Morrow, S. Selke, J. Zeh, L. Corey.** 2003. Effect of Serologic Status and Cesarean Delivery on Transmission Rates of Herpes Simplex Virus from Mother to Infant. *The Journal of the American Medical Association (JAMA)* 289(2): 203-209.
7. **Ashley RL., A. Wald.** 1999. Genital Herpes: Review of the Epidemic and Potential Use of Type-Specific Serology. *Clinical Microbiology Reviews* 12: 1-8.
8. **Swenson, et al.** 2016. Evaluation of a transcription mediated amplification assay for detection of herpes simplex virus types 1 and 2 mRNA in clinical specimens. *J Clin Virol* 80, 62-67.
9. **Sciortino MT., M. Suzuki, B. Taddeo, B. Roizman.** 2001. RNAs Extracted from Herpes Simplex Virus 1 Virions: Apparent Selectivity of Viral but Not Cellular RNAs Packaged in Virions. *Journal of Virology* 75(17):8105-8116.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
11. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
12. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.

Informações de contacto e histórico de revisões



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 EUA



Endereço do promotor australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Para obter o endereço de e-mail e o número de telefone do Suporte técnico e do Apoio ao Cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Incidentes graves que ocorram em relação ao dispositivo na União Europeia devem ser comunicados ao fabricante e à autoridade competente do Estado Membro onde o utilizador e/ou paciente reside.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e os logótipos associados são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou noutros países.

Quaisquer outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo pertencem aos respetivos proprietários.

Este produto pode estar abrangido por uma ou várias patentes nos EUA, as quais podem ser consultadas em: www.hologic.com/patents.

©2016-2022 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-23071-601 Rev. 001
2022-10

Histórico de revisão	Data	Descrição
AW-23071 Rev. 001	Outubro de 2022	<ul style="list-style-type: none"> • Criadas as instruções de utilização do APTIMA HSV 1 & 2 assay AW-23071 Rev. 001 que irão substituir o documento AW-15346 Rev. 005. Para conformidade com o IVDR (Fora dos EUA e/ou nos EUA), os dados são mais robustos e foi redigido um novo folheto informativo para cumprir os requisitos do IVDR • Adicionado o Resumo de segurança e desempenho • Atualizada a secção de Advertências e precauções • Atualizada a secção Materiais necessários, mas disponíveis separadamente • Secção do Panther System atualizada no Procedimento de teste no Panther System • Removidas as anteriores Tabelas 13 a 18 e atribuição de nova numeração em conformidade • Atualização de informações de contacto incluindo: Representante na CE, marcação CE, informações do representante australiano e suporte técnico • Diversas atualizações de estilo e formatação