

Test Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

Návod k použití
K diagnostickému použití *in vitro*.
Pouze pro export z USA.

Obecné informace	2
Určené použití	2
Shrnutí a vysvětlení testu	2
Principy postupu	3
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti	3
Varování a bezpečnostní opatření	4
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi	6
Odběr a skladování vzorků	6
Systém Panther	9
Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky	9
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně	10
Postup testu na systému Panther	11
Poznámky k postupu	14
Kontrola kvality	15
Interpretace testu	16
Omezení	17
Funkční způsobilost analytických testů v systému Panther	18
Transportní médium pro viry (VTM)	18
Analytická citlivost	18
Ověření hodnoty LoD	18
Souběžná infekce	19
Zkřížená reaktivita	19
Interference	20
Reprodukovatelnost	22
Funkčnost metody při testování klinické matrice viru HSV-2 nepřírozně se vyskytujícího v ústech	23
Funkční způsobilost analytických testů v systému Panther	24
Klinická funkčnost	24
Referenční rozmezí a očekávané hodnoty	27
Literatura	30
Kontaktní informace a historie revizí	31

Obecné informace

Určené použití

Test Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (dále také jen test Aptima HSV 1 & 2 assay) využívá principu amplifikace nukleových kyselin (nucleic acid amplification test – NAAT) a probíhá *in vitro* v reálném čase. Slouží ke kvalitativní detekci a diferenciaci mediátorové RNA (mRNA) v herpes simplex viru (HSV) prvního (HSV-1) a druhého typu (HSV-2) pomocí systému Panther™.

Tento test může být použit k analyzování stěrů z kožních lézí v anogenitální oblasti či v ústech, které byly umístěny do transportního média pro viry (VTM) nebo média na přepravu vzorků (STM) společnosti Aptima. Test se využívá k diagnostice infekcí virem HSV-1 nebo HSV-2 u symptomatických pacientů obou pohlaví.

Prostředek není určen k testování mozkomíšního moku ani k prenatálnímu screeningu.

Shrnutí a vysvětlení testu

Herpes simplex virus prvního a druhého typu (HSV-1 a HSV-2) jsou viry s dvouvláknovou DNA řazené do podčeledi Alphaherpesvirinae. Přestože jsou viry HSV-1 a HSV-2 úzce příbuzné, geneticky i sérologicky se liší (1). Ve Spojených státech v letech 2005–2010 činila séroprevalence protilátek proti HSV-1 53,9 % a séroprevalence protilátek proti HSV-2 15,7 % (2).

Viry HSV-1 a HSV-2 obvykle infikují abradovanou kůži nebo ústní či genitální sliznici a způsobují bolestivé léze. Po prvotní symptomatické fázi viry způsobují latentní infekce ganglií senzorických nervů, které jsou celoživotní a nevyléčitelné. Reaktivaci viru může vyvolat mnoho situací, jako je fyzický nebo psychický stres, horečka, ultrafialové záření a poškození tkání, což následně vede k recidivě lézí či asymptomatickému olupování (1,3).

Oba viry HSV-1 i HSV-2 mohou infikovat sliznici úst a genitálu, ale většinu negenitálních infekcí způsobuje typ HSV-1. Genitální infekce HSV představují jednu z nejčastějších sexuálně přenosných infekcí v USA. Nejběžnějším původcem genitálního herpesu je HSV-2, ale nedávné studie ukazují nárůst incidence genitálního herpesu vyvolaného typem HSV-1 (4). Genitální infekce HSV mohou usnadňovat nakažení virem HIV a jeho přenos (5). U těhotných žen s pozdní primární genitální infekcí HSV také hrozí 50 % riziko přenosu viru na plod a vyšší riziko spontánního potratu nebo předčasného porodu (6).

Vysoké procento asymptomatických infekcí virem HSV pacienti ani lékaři nerozpoznají (7). Přesná diagnostika infekcí HSV zlepšuje možnost poradenství, vede k účinné léčbě a snižuje riziko přenosu (4).

K diagnostice infekcí virem HSV se v minulosti používala kultivace viru s následnou typizací HSV pomocí imunofluorescence, což je časově a pracovně náročný proces. Testy amplifikace nukleových kyselin (NAAT) vykazují vyšší citlivost a menší časovou náročnost v porovnání s kultivačními metodami (4).

Test Aptima HSV 1 & 2 assay je metoda NAAT vyvinutá k použití v automatizovaném systému Panther, který používá technologii záchytu cíle, TMA a detekci HSV-1 a HSV-2 v reálném čase s použitím vnitřní kontroly (IC). Test Aptima HSV 1 & 2 assay slouží k amplifikaci a detekci mRNA virů HSV-1 a HSV-2 (8). Tyto RNA se exprimují z virového genomu v průběhu infekčního cyklu a jsou zabaleny do virových částic HSV-1 a HSV-2 před jejich uvolněním z infikovaných buněk (9). Test Aptima HSV 1 & 2 assay tedy detekuje buňky infikované virem i samotné zralé virové částice.

Principy postupu

Test Aptima HSV 1 & 2 assay zahrnuje tři hlavní kroky, které probíhají v jediné zkumavce v systému Panther: záchyt cíle, amplifikace cíle metodou TMA a detekce produktů amplifikace (amplikonů) pomocí fluorescenčně značených sond (indikátorů). Každý test obsahuje IC pro sledování záchytu, amplifikace a detekce cílových nukleových kyselin.

Vzorky se odebírají nebo přepravují ve zkumavce s médiem STM, které zajišťuje lýzu buněk a uvolnění mRNA a brání její degradaci během skladování. Při provedení testu Aptima HSV 1 & 2 assay se cílová mRNA izoluje ze vzorku pomocí záchytových oligomerů navázaných na magnetické mikročástice. Záchytové oligomery obsahují sekvence odpovídající specifickým oblastem cílových molekul mRNA viru HSV a řetězec deoxyadenosinových zbytků. V průběhu hybridizace se oblasti záchytových oligomerů se specifickými sekvencemi navážou na specifické oblasti cílové molekuly mRNA viru HSV. Komplex záchytového oligomeru a cíle se poté vychytá z roztoku snížením teploty reakce na pokojovou teplotu. Snížením teploty může proběhnout hybridizace mezi deoxyadenosinovou oblastí záchytového oligomeru a polydeoxythymidinovými molekulami, které jsou kovalentně navázané na magnetické částice. Mikročástice s navázanými zachycenými cílovými molekulami mRNA viru HSV se pomocí magnetů transportují na okraj reakční zkumavky a supernatant se odsaje. Částice se promyjí, aby se odstranila zbývající matrice vzorku, která může obsahovat inhibitory amplifikace.

Po dokončení záchytu cíle se mRNA viru HSV amplifikuje metodou TMA, která představuje metodu amplifikace nukleových kyselin na bázi transkripce využívající dva enzymy, reverzní transkriptázu MMLV a RNA polymerázu T7. Reverzní transkriptáza vytváří kopii DNA z cílové sekvence mRNA, která obsahuje promotorovou sekvenci pro RNA polymerázu T7. RNA polymeráza T7 vytváří vícečetné kopie amplikonu RNA z templátu kopie DNA.

Detekce se provádí pomocí indikátorů z jednovláknové nukleové kyseliny, které jsou přítomné během amplifikace cíle a v reálném čase specificky hybridizují na amplikon. Každý indikátor obsahuje fluorofor a zhášec. Zhášec potlačuje fluorescenci fluoroforu a je navržen tak, aby byl v těsné blízkosti, pokud není hybridizován k amplikonu. Po navázání indikátoru na amplikon se zhášec posune dále od fluoroforu a po excitaci zdrojem světla začne emitovat signál specifické vlnové délky. Je-li přítomno více amplikonů, dojde k hybridizaci většího počtu indikátorů. Nárůst fluorescenčního signálu při postupující amplifikaci lze detekovat pomocí fluorometrů v systému Panther. Systém Panther je schopen detekovat a rozlišit mezi třemi fluorescenčními signály, které odpovídají amplifikačním produktům HSV-1, HSV-2 a IC. Fluorescence (měření v jednotkách relativní fluorescence [RFU]) se sleduje v čase a vytvoří se křivka vzniku fluorescence v reálném čase pro všechna reportérová barviva. Software systému Panther porovnává křivky vzniku fluorescence s pevně stanovenými časy a následně hlásí výsledky (Tčas) pro HSV-1, HSV-2 a IC.

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (základní UDI-DI). Souhrn SSP k testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 assay můžete vyhledat pomocí základního jedinečného identifikátoru prostředku (Basic Unique Device Identifier, BUDI): **54200455DIAGAPTHSV12S7**.

Varování a bezpečnostní opatření

- A. K diagnostickému použití *in vitro*.
- B. K profesionálnímu použití.
- C. Před provedením testu si pečlivě přečtěte celou příbalovou informaci a dokument *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Příručka obsluhy k systému Panther a Panther Fusion)*. Snížíte tak riziko výskytu neplatných výsledků.

Informace pro laboratoře

- D. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- E. Dodržujte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. Nepipetujte ústy. Ve vyhrazených pracovních prostorech nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensy soupravy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranné brýle a laboratorní plášť. Po manipulaci se vzorky a reagensy soupravy si pečlivě omyjte ruce.
- F. Pracovní povrchy, pipety a další vybavení pravidelně dekontaminujte 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného.
- G. Všechny materiály, které přišly do kontaktu se vzorky a reagensy, zlikvidujte podle místních nebo národních nařízení (10,11,12,13). Pečlivě očistěte a dezinfikujte všechny pracovní povrchy.
- H. Používejte standardní správnou praxi pro molekulární laboratoře včetně monitorování prostředí.

Informace o práci se vzorky

- I. Datum expirace souprav k přenosu vzorků se vztahuje na odběr/přenos vzorků, nikoli na provedení testu vzorku. Vzorky odebrané/transportované kdykoli před uplynutím data expirace je možné testovat za předpokladu, že transport a skladování probíhalo v souladu s příbalovou informací, a to i v případech, kdy již uplynulo datum expirace na přenosové zkumavce.
- J. Vzorky mohou být infekční. Při provádění testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření (10,11,12). Zajistěte správné postupy při manipulaci a likvidaci v souladu s místními nařízeními (13). Tento test mohou používat pouze pracovníci náležitě vyškolení v použití testu Aptima HSV 1 & 2 assay a v manipulaci s infekčními materiály.
- K. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, zajistěte při přepravě vzorků vhodné přepravní podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- L. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Dávejte zvláštní pozor, aby nedošlo ke kontaminaci rozstříkáváním aerosolů při uvolňování nebo otevírání vzorků. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby na vzorky vzájemně nedotýkaly, a použité materiály při likvidaci nepřenášejte nad otevřenými nádobami. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si rukavice.
- M. Za určitých podmínek může začít z uzávěru po propíchnutí transportní zkumavky Aptima vytékat tekutina. Další informace najdete v příslušné části *Postup testu*.
- N. Pokud se do laboratoře dostane transportní zkumavka na stěrové vzorky Aptima™ Multitest bez stěru, se 2 stěry nebo se stěrem, který nedodala společnost Hologic, je nutné takový vzorek odmítnout. Před odmítnutím transportní zkumavky na vzorky bez stěru zkontrolujte, zda se nejedná o transferovou zkumavku na vzorky Aptima, protože tato zkumavka na přepravu vzorků stěr neobsahuje.

Informace o práci s testy

- O. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagenty testu ze souprav s různými čísly hlavní šarže. Kontroly a testovací kapaliny lze zaměňovat.
- P. Zabraňte mikrobiální a nukleázové kontaminaci reagentů.
- Q. Všechny reagenty testu uzavřete a skladujte při uvedené teplotě. Při nesprávném skladování reagentů testu může být negativně ovlivněna funkční způsobilost testu. Další informace naleznete v části *Požadavky na skladování reagentů a zacházení s nimi a Postup testu na systému Panther*.
- R. Pokud nebude výslovně uvedeno jinak, nekombinujte žádné reagenty ani kapaliny testu. Nedolévejte reagenty ani kapaliny. Systém Panther ověřuje hladiny reagentů.
- S. Některé reagenty v této sadě jsou označeny rizikovými a bezpečnostními symboly.

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (SDS) EU. Informace o nebezpečích specifické pro váš region naleznete v bezpečnostním listu určeném pro daný region v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologicsds.com. Další informace o symbolech naleznete v legendě symbolů na adrese <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informace o nebezpečí pro EU	
–	Enzyme Reagent HEPES 1–5 % TRITON X-100 1-5 % H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
–	Enzyme Reconstitution Solution GLYCEROL 20-25 % TRITON X-100 5-10 % HEPES 1-5 % H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
–	Promoter Reagent MAGNESIUM CHLORIDE 60–65 % H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
–	Target Capture Reagent HEPES 5–10 % EDTA 1–5 % LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1–5 % H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
–	Amplification Reagent MAGNESIUM CHLORIDE 60–65 % H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi

A. V následující tabulce jsou uvedeny skladovací podmínky a stabilita reagensů a kontrol.

Reagencie	Skladování v neotevřeném stavu	Otevřená souprava (po rekonstituci)	
		Skladování	Stabilita
Amplifikační reagencie	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro amplifikaci	15 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ¹
Enzymová reagencie	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro enzymy	15 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ¹
Promotorová reagencie	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok promotoru	15 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ¹
Reagencie pro záchyt cíle	15 °C až 30 °C	15 °C až 30 °C ²	30 dní ¹
Negativní kontrola	2 °C až 8 °C		Jednorázová lahvička
Pozitivní kontrola	2 °C až 8 °C		Jednorázová lahvička
Vnitřní kontrola	2 °C až 8 °C		Jednorázová lahvička

¹Po vyjmutí reagensů ze systému Panther je nutné je ihned vrátit zpět do prostředí s vhodnou skladovací teplotou.

²Skladovací podmínky pro pracovní reagensy záchytu cíle (reagencie pro záchyt cíle s přidanou vnitřní kontrolou).

- B. Veškeré nepoužité rekonstituované reagensy a pracovní reagensy záchytu cíle (wTCR) zlikvidujte po 30 dnech nebo po uplynutí data expirace hlavní šarže podle toho, která situace nastane dříve.
- C. Reagensy uložené v systému Panther mají stabilitu v přístroji 120 hodin.
- D. Kontroly jsou stabilní do data uvedeného na lahvíčkách.
- E.  Promotorová reagensy a rekonstituovaná promotorová reagensy jsou fotosenzitivní. Při skladování a přípravě k použití chraňte tyto reagensy před světlem.
- F. Při manipulaci s reagensy a při skladování zabraňte křížové kontaminaci. Před každým uložením opatřete všechny rekonstituované reagensy novým víčkem.
- G. **Reagensy nezmrazujte.**

Odběr a skladování vzorků

Poznámka: Se všemi vzorky je nutné zacházet jako s potenciálně infekčními. Postupujte podle univerzálních bezpečnostních opatření.

Poznámka: Dávejte pozor, aby při manipulaci se vzorky nedošlo ke křížové kontaminaci. Při likvidaci například nepřenášejte použitý materiál nad otevřenými zkumavkami.

Jako vzorky lze použít klinické stěry lézí z anogenitální a orální oblasti vložené do média STM nebo VTM.

Vzorky lézí je možné odebírat do následujících médií:

- Souprava pro odběr vzorků pro více typů stěrů Aptima Multitest™ (pro STM)
- Komerčně dostupná souprava pro odběr vzorků VTM (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 a Remel M5)

A. Pokyny pro odběr

Konkrétní pokyny pro odběr naleznete v příbalové informaci příslušné soupravy pro odběr vzorků (souprava pro odběr vzorků pro více typů stěrů Aptima Multitest v případě vzorků odebraných v médiu STM, nebo souprava pro přenos vzorků Aptima Specimen Transfer Kit™ v případě vzorků odebraných v médiu VTM).

B. Přeprava a skladování vzorků před testováním

1. Stěry odebrané do soupravy pro odběr vzorků pro více typů stěrů Aptima Multitest
 - a. Vzorky přepravujte a skladujte v transportní zkumavce na stěry Aptima při teplotě 2 °C až 30 °C maximálně 60 dní po odběru.
 - b. Je-li nutné delší skladování, uložte vzorky při teplotě ≤ -20 °C maximálně na 90 dní po odběru.
2. Stěry odebrané do soupravy pro odběr vzorků VTM
 - a. Vzorky přepravujte a skladujte ve zkumavce VTM při teplotě 2 °C až 8 °C maximálně 3 dny po odběru.
 - b. Vzorky odebrané do média VTM je nutné před hodnocením pomocí testu Aptima HSV 1 & 2 assay přenést do transportní zkumavky ze soupravy pro transfer vzorků Aptima s 2,9 ml média STM dle níže uvedených pokynů.
 - c. Příprava prostoru pro přenos vzorků
 - i. Nasadte si čisté rukavice bez talku.
 - ii. Otřete pracovní povrchy a pipetory 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného.
 - iii. Nechte roztok chlornanu sodného působit na pracovní povrchy a pipetory alespoň 1 minutu a poté je opláchněte deionizovanou vodou. Povrchy osušte čistými papírovými utěrkami.
 - iv. Pracovní desku laboratorního stolu pokryjte čistým absorpčním ubrusem s plastovou vrstvou.
 - v. Do prostoru pro přenos vzorků vložte stojan na zkumavky na vzorek s počtem transferových zkumavek na vzorek Aptima odpovídajícím počtu testovaných vzorků VTM.
 - vi. Každou transferovou zkumavku na vzorek Aptima označte přístupovým číslem nebo ID vzorku.
 - d. Postup přenosu vzorku
 - i. Pracujte postupně s jednotlivými vzorky VTM, abyste snížili riziko kontaminace ostatních vzorků.
 - ii. Nasadte si čisté rukavice bez talku a vložte testované vzorky do prostoru pro přenos vzorků.
 - iii. Odeberte 1 vzorek VTM. Sundejte víčko z příslušné transferové zkumavky na vzorek Aptima a položte je na pracovní plochu závitěm nahoru.
 - iv. Míchejte vzorek VTM ve vortexu 3 až 10 sekund. Sundejte víčko ze zkumavky a položte jej na pracovní plochu závitěm nahoru.
 - v. Do 1 minuty od promíchání napipetujte 0,5 ml vzorku VTM do transferové zkumavky na vzorek Aptima ze soupravy pro transfer vzorků Aptima. Zkumavka obsahuje 2,9 ml média STM.

- vi. Pipetovací špičku zlikvidujte do nádoby s 0,5 % roztokem chlornanu sodného.
 - vii. Znovu těsně uzavřete transferovou zkumavku na vzorek Aptima víčkem.
Zkumavku opatrně 2krát až 3krát převraťte, aby se vzorek dostatečně promíchal.
 - viii. Zkumavku se zbytkem vzorku VTM znovu uzavřete víčkem a v případě potřeby uložte při teplotě $\leq -70^{\circ}\text{C}$.
 - ix. Další vzorky přenesete zopakováním kroků iii až viii. Rukavice bez talku si často vyměňujte, obzvláště když se vzorku dotknete.
 - e. Vzorky lze po přenosu do transferové zkumavky na vzorek Aptima přepravovat a skladovat při teplotě 2°C až 30°C maximálně 30 dní.
 - f. Je-li nutné delší skladování, zmrazte vzorek VTM v transferové zkumavce na vzorek Aptima při teplotě $\leq -20^{\circ}\text{C}$ maximálně na 90 dní.
- C. Uchovávání vzorků po testování
1. Otestované vzorky je nutné skladovat ve stojanu ve svislé poloze.
 2. Zkumavky na vzorky je nutné překrýt novým a čistým plastovým filmem, bariérovou fólií nebo víčkem.
- Poznámka:** *Jakýkoliv stav vedoucí ke ztrátě nebo odpaření média během přepravy, manipulace nebo skladování může ovlivnit schopnost napipetovat větší počet alikvotů.*
3. Je-li nutné otestované vzorky zmrazit nebo odeslat, odstraňte z transportní zkumavky na vzorek propichovací uzávěr a nasadte na ni nový, nepropichovací uzávěr. Je-li nutné vzorky odeslat k testování na jiné pracoviště, musejí se dodržet doporučené teploty.
 4. Před odstraněním víčka z dříve testovaných a znovu uzavřených vzorků je nutné transportní zkumavky na vzorek 5 minut znovu centrifugovat při relativní odstředivé síle 420 RCF, aby se veškerá tekutina dostala na dno zkumavky. **Zabraňte rozstříkávání a křížové kontaminaci.**
- Poznámka:** *Vzorky musí být přepravovány v souladu s platnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy pro přepravu.*

Systém Panther

Níže jsou uvedeny reagentie testu Aptima HSV 1 & 2 assay pro systém Panther. Vedle názvu reagentie jsou rovněž uvedeny symboly k identifikaci reagentií.

Reagentie a materiály, které jsou součástí dodávky

Souprava testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

100 testů (2 testovací krabice a 1 sada kontrol), kat. č. PRD-03568

Kontroly jsou k dispozici samostatně. Viz individuální katalogové číslo níže.

Chlazená krabice testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství
A	Amplifikační reagentie <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku.</i>	1 lahvička
E	Enzymová reagentie <i>Vysušená reverzní transkriptáza a RNA polymeráza v roztoku pufovaném HEPES.</i>	1 lahvička
PRO	Promotorová reagentie <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku.</i>	1 lahvička
IC	Vnitřní kontrola <i>Neinfekční nukleové kyseliny v pufovaném roztoku.</i>	1 × 0,3 ml

Krabice testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay do pokojové teploty (po přijetí skladujte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Součást	Množství
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci <i>Vodný roztok obsahující glycerol a konzervační látky.</i>	1 × 7,2 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 × 5,8 ml
PROR	Rekonstituční roztok promotoru <i>Vodný roztok obsahující glycerol a konzervační látky.</i>	1 × 4,5 ml
TCR	Reagentie pro záchyt cíle <i>Nukleové kyseliny v pufovaném solném roztoku obsahujícím pevnou fázi a neinfekční nukleové kyseliny.</i>	1 × 26,0 ml
	Rekonstituční objímky	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list

Sada kontrol testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (kat. č. PRD-03569)
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství
CONTROL –	Negativní kontrola <i>Pufrovaný roztok.</i>	5 × 2,7 ml
CONTROL +	Pozitivní kontrola <i>Neinfekční nukleové kyseliny v pufrovaném roztoku.</i>	5 × 1,7 ml
	List s čárovými kódy kontrol	1 list

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

Poznámka: Materiály s uvedenými katalogovými čísly jsou k dispozici od společnosti Hologic, není-li uvedeno jinak.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther	303095
Systém Panther Fusion	PRD-04172
Systém Panther Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Testovací souprava Panther k testování v reálném čase (pouze pro testy v reálném čase)	PRD-03455 (5 000 testů)
<i>Souprava kapalin pro test Aptima™ (rovněž známá jako univerzální souprava kapalin)</i>	303014 (1 000 testů)
<i>obsahuje promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny a olejovou reagensii Aptima</i>	
Jednotky s více zkumavkami (MTU)	104772-02
Souprava pytle na odpad Panther	902731
Kryt odpadního koše Panther	504405
Nebo souprava pro běhy Panther Run Kit	303096 (5 000 testů)
<i>(pro souběžné testování testů TMA bez reálného času s testy TMA v reálném čase)</i>	
<i>Obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních košů, automatickou detekci a testovací kapaliny.</i>	
Souprava kapalin pro test Aptima Assay Fluids Kit	303014 (1 000 testů)
<i>(obsahuje promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny a olejovou reagensii Aptima).</i>	
Jednotky s více zkumavkami (MTU)	104772-02
Špičky, 1 000 µl s filtrem, vodivé, detekující kapaliny a jednorázové	901121 (10612513 Tecan)
<i>Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u místního zástupce</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Souprava pro transfer vzorků Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
<i>k použití se vzorky odebranými do média VTM</i>	
Souprava pro transfer vzorků Aptima – tisknutelné	PRD-05110
<i>k použití se vzorky odebranými do média VTM</i>	

Souprava pro odběr vzorků Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit PRD-03546

Bělídlo 5,0 % až 8,25 % (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného –

Jednorázové rukavice bez talku –

Propichovací uzávěry Aptima 105668

Náhradní nepropichovací uzávěry 103036A

Náhradní uzávěry pro reagentie –

Rekonstituční roztoky pro amplifikační, enzymové a promotorové reagentie

CL0041 (100 uzávěrů)

TCR 501604 (100 uzávěrů)

Kryty laboratorních stolů s plastovou vrstvou –

Utěrky neuvolňující vlákna –

Pipetor –

Špičky –

Vortex –

Centrifuga –

Volitelné materiály **Kat. č.**

Zesilovač bělidla na čištění Holologic 302101
na běžné čištění ploch a zařízení

Třepačka –

Postup testu na systému Panther

Poznámka: Další informace o postupu se systémem Panther naleznete v příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion.

A. Příprava pracovní oblasti

1. Očistěte pracovní povrchy tam, kde budete připravovat reagentie. Otřete pracovní povrchy 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Nechte roztok chlornanu sodného působit na povrch alespoň 1 minutu a poté je opláchněte deionizovanou vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Zakryjte povrch pracovního stolu čistým krytem pro laboratorní stůl s plastovou vrstvou.
2. Zvlášť očistěte pracovní povrch, na kterém budete vzorky připravovat. Dodržujte výše uvedený postup (krok A.1).
3. Vyčistěte všechny pipetory. Použijte postup čištění popsany výše (krok A.1).

B. Rekonstituce/příprava reagentie z nové soupravy

Poznámka: Před zahájením jakékoli práce na systému Panther je třeba provést rekonstrukci reagentií.

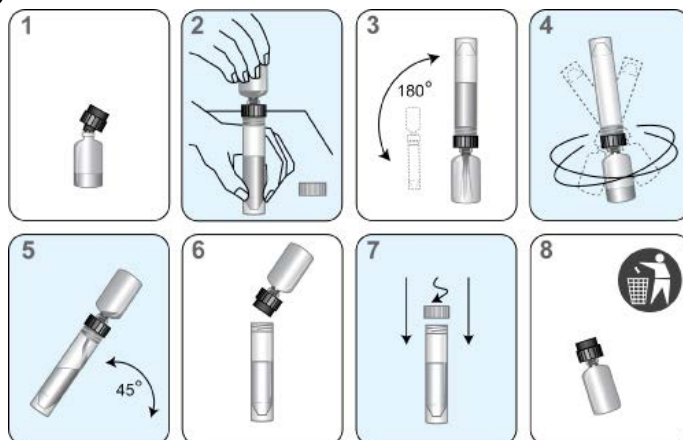
1. Před testováním musíte rekonstituovat amplifikační, enzymovou a promotorovou reagentii tak, že zkombinujete obsah jednotlivých lahviček s lyofilizovanou reagentií s příslušným rekonstitučním roztokem.
 - a. Před použitím nechte lyofilizované reagentie temperovat na pokojovou teplotu (15 °C až 30 °C).

- b. Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagencií. Před připojením rekonstituční objímky musíte zkontrolovat, zda na štítku rekonstitučního roztoku a na reagenci jsou odpovídající symboly.
- c. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, aby došlo ke správnému spárování reagencií. Víčka lahviček s rekonstitučním roztokem označte štítky.
- d. Otevřete skleněnou lahvičku s lyofilizovanou reagencií a pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky do otvoru skleněné lahvičky (Obrázek 1, krok 1).
- e. Otevřete odpovídající lahvičku s rekonstitučním roztokem a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
- f. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na stole a pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do otvoru v lahvičce s rekonstitučním roztokem (Obrázek 1, krok 2).
- g. Pomalu překlopte spojené lahvičky. Nechte roztok přetéct z lahvičky s rekonstitučním roztokem do skleněné lahvičky (Obrázek 1, krok 3).
- h. Roztok v lahvičce promíchejte opatrným kroužením. Při promíchávání lahvičky se nesmí vytvořit pěna (Obrázek 1, krok 4).
- i. Počkejte alespoň 15 minut, než lyofilizovaná reagencie přejde do roztoku, poté znovu převraťte spojené lahvičky a nakloňte je v úhlu 45°. Pěna by se tak vytvořit neměla (Obrázek 1, krok 5). Nechte veškerou tekutinu vtéci zpět do lahvičky s rekonstitučním roztokem.
- j. Odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 1, krok 6).
- k. Plastovou lahvičku znovu uzavřete buď uchovaným víčkem označeným štítkem odpovídajícím reagenci nebo novým víčkem. Víčka nezaměňujte. Na štítek napište iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 1, krok 7).
- l. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 1, krok 8).

Varování: Při rekonstituci reagencií zabraňte tvorbě pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.

Varování: Pro dosažení očekávaných výsledků testu je nebytné dostatečné promíchání reagencií.

Varování: Je povoleno další promíchání amplifikační, enzymatické a promotorové reagencie pomocí třepačky.



Obrázek 1. Postup rekonstituce reagencií

2. Příprava pracovní reagentie zachytu cíle (wTCR)
 - a. Spárujte odpovídající lahvičky TCR a IC.
 - b. Zkontrolujte čísla šarže reagentií na listu s čárovým kódem hlavní šarže, aby došlo ke správnému spárování reagentií v soupravě.
 - c. Otevřete lahvičku TCR a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - d. Otevřete lahvičku IC a přelijte veškerý obsah do lahvičky s TCR. Malé množství roztoku zůstane v lahvičce s IC.
 - e. Uzavřete lahvičku a opatrným kroužením roztoky promíchejte. Při tomto kroku se nesmí vytvořit pěna.
 - f. Na štítek запиšte iniciály obsluhy a aktuální datum.
 - g. Lahvičku IC a její uzávěr zlikvidujte.

C. Příprava u dříve připravovaných reagentií

1. Před zahájením testu je nutné nechat dříve připravené amplifikační, enzymové a promotorové reagentie temperovat na pokojovou teplotu (15 °C až 30 °C).

Volitelně: Další promíchání amplifikační reagentie, enzymové reagentie a promotorové reagentie pomocí třepačky na zkumavky je povoleno. Reagentie se mohou promíchat umístěním znovu uzavřené plastové lahvičky na třepačku nastavenou na 20 ot./min (nebo ekvivalentní hodnotu) minimálně na 25 minut.

2. Pokud wTCR obsahuje precipitát, roztok wTCR ohřívejte na teplotu 42 °C až 60 °C až 90 minut. Před použitím nechte wTCR dosáhnout pokojové teploty. Pokud precipitát přetrvává, roztok nepoužívejte.
3. Zkontrolujte, zda nebyla u reagentií překročena doba stability při skladování, včetně stability v přístroji.
4. Před vložením reagentií do systému je všechny pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení reagentií zabraňte tvorbě pěny. Tento krok není nutný, pokud jsou reagentie vloženy do systému bezprostředně po promíchání na třepačce.
5. Lahvičky s reagentiemi nedoplňujte. Doplněné lahvičky systém Panther rozpozná a zamítne je.

Varování: K dosažení požadovaných výsledků testu je nezbytné reagentie dostatečně promíchat.

D. Manipulace se vzorky

1. Pohledem zkontrolujte, zda všechny zkumavky na vzorky splňují jedno z následujících kritérií:
 - a. Přítomnost jediného růžového odběrového stěru Aptima v transportní zkumavce na stěrové vzorky Aptima Multitest.
 - b. Nepřítomnost stěru v transferové zkumavce na vzorek Aptima u vzorků VTm.
2. Před zpracováním nechte kontroly a vzorky dosáhnout pokojové teploty.

Poznámka: Před testováním nebo za účelem vyřešení podezřelých neplatných výsledků vzorků je možné vzorky promíchat ve vortexové třepačce při vysoké rychlosti po dobu minimálně 3 minut s následným protřepáním pomalou rychlostí po dobu 1 minuty (aby se kapalina dostala na dno zkumavky).

3. Před vložením do stojanu zkumavky se vzorky zkontrolujte:
 - a. Pokud zkumavka se vzorky obsahuje bubliny v prostoru mezi roztokem a uzávěrem, centrifugujte zkumavku 5 minut při 420 RCF, abyste bubliny odstranili.

- b. Pokud má zkumavka se vzorkem menší objem, než je obvykle pozorován při dodržení pokynů k odběru, centrifugujte zkumavku 5 minut při 420 RCF, aby v uzávěru nebyla kapalina.

Poznámka: Pokud neprovedete kroky 3a–3b, může dojít k vytečení tekutiny z uzávěru zkumavky na vzorek.

Poznámka: Z každé zkumavky se vzorkem lze otestovat až 5 samostatných alikvotů. Pokud se pokusíte pipetovat více než 5 alikvotů ze zkumavky se vzorkem, může při zpracování dojít k chybě.

E. Příprava systému

1. Systém nastavte podle pokynů uvedených v příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion a v části Poznámky k postupu.

Poznámka: Vyberte vhodnou velikost stojanů na reagentie a TCR adaptérů.

2. Vložte vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. Zkumavky s pozitivní kontrolou a negativní kontrolou můžete v systému Panther vložit do libovolné pozice stojanu nebo libovolné řady vzorků. Pipetování vzorků se spustí při splnění 1 z následujících 2 podmínek:
 - a. Kontroly se v systému právě zpracovávají.
 - b. V systému jsou registrovány platné výsledky kontrol.
2. Jakmile proběhne pipetování a zpracování kontrolních zkumavek pro konkrétní soupravu reagentií, můžete v průběhu 24 hodin patientské vzorky otestovat pomocí přiřazené soupravy, **pokud nenastane následující:**
 - a. Výsledky kontrol jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagentií testu je ze systému vyjmuta.
 - c. Přiřazená souprava reagentií testu překročila limity stability.
3. Každá zkumavka s kontrolou může být testována pouze jednou. Chcete-li ze zkumavky pipetovat více než jednou, může při zpracování dojít k chybě.

B. Teplota

Pokožková teplota je definována jako 15 °C až 30 °C.

C. Talk z rukavic

Stejně jako u jiných systémů reagentií může nadbytek talku z rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

Kontrola kvality

A. Kritéria platnosti testování

Software stanoví platnost testu automaticky. Software platnost testu zruší, pokud má některá nebo obě kontroly (pozitivní a negativní) neplatný výsledek.

Obsluha může platnost testu zrušit, pokud jsou při provádění testu zjištěny a zdokumentovány technické problémy, problémy na straně obsluhy nebo problémy s přístrojem.

Neplatný test je nutné zopakovat.

B. Platnost kontroly

Tabulka 1 uvádí kritéria platnosti parametru Tčas u negativních i pozitivních kontrol.

Tabulka 1: Kritéria platnosti parametru Tčas

	IC Tčas	HSV-1 Tčas	HSV-2 Tčas
Negativní kontrola	$\geq 7,0$ a $\leq 40,0$	–	–
Pozitivní kontrola	$\geq 7,0$ a $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ a $\leq 35,0$	$\geq 3,0$ a $\leq 35,0$

Poznámka: Externí vzorky kontroly kvality (nejsou součástí dodávky) je nutné testovat v souladu s místními, národními nebo federálními regulacemi nebo požadavky na akreditaci a se standardy pro kontrolu kvality každé laboratoře.

Poznámka: Chcete-li pomoc s kontrolami mimo rozmezí, obraťte se na technickou podporu společnosti Hologic.

Poznámka: Pokud hodnotu Tčas nelze vypočítat, zobrazí se pomlčka (–).

Interpretace testu

Výsledky testu jsou automaticky stanoveny softwarem testu. Výsledky detekce HSV-1 a HSV-2 jsou hlášeny samostatně. Tabulka 2 uvádí možné hlášené výsledky pro platný test a interpretace výsledků. Hlášení se provádí u prvního platného výsledku. Vzorky s neplatným výsledkem je nutné testovat znovu. Pokud je i druhý výsledek neplatný, je nutno odebrat nový vzorek.

Tabulka 2: Interpretace výsledků

Výsledek HSV-1	Výsledek HSV-2	Interpretace
HSV1 neg	HSV2 neg	Negativní: Nebyla detekována mRNA HSV-1 ani HSV-2.
HSV1 neg	HSV2 POS	HSV-2 pozitivní: Detekována mRNA HSV-2.
HSV1 POS	HSV2 neg	HSV-1 pozitivní: Detekována mRNA HSV-1.
HSV1 POS	HSV2 POS	HSV-1 a HSV-2 pozitivní: Detekována mRNA HSV-1 a HSV-2.
Neplatný	Neplatný	Neplatný: Při generování výsledku došlo k chybě. Vzorky je nutné testovat znovu.

Tabulka 3 uvádí kritéria parametru Tčas ke stanovení výsledku pro konkrétní vzorek. Test může být také neplatný s ohledem na překročení očekávaného rozsahu dalších parametrů.

Tabulka 3: Kritéria parametru Tčas

	IC Tčas	HSV-1 Tčas	HSV-2 Tčas
Negativní	$\geq 7,0$ a $\leq 45,0$	–	–
HSV1 pozitivní	– nebo $\geq 7,0$ a $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ a $\leq 53,0$	–
HSV2 negativní			
HSV1 negativní	– nebo $\geq 7,0$ a $\leq 53,0$	–	$\geq 3,0$ a $\leq 53,0$
HSV2 pozitivní			
HSV1 pozitivní	– nebo $\geq 7,0$ a $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ a $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ a $\leq 53,0$
HSV2 pozitivní			
Neplatný	–	–	–

Poznámka: Pokud hodnotu Tčas nelze vypočítat, zobrazí se pomlčka (–).

Omezení

- A. Test mohou používat pouze osoby vyškolené v provedení příslušných postupů. Nedodržení pokynů uvedených v této příbalové informaci povede k chybným výsledkům.
- B. Spolehlivost výsledků závisí na adekvátním odběru, transportu, skladování a zpracování vzorků.
- C. Prostředek není určen k testování mozkomíšního moku ani k prenatálnímu screeningu.
- D. Výsledky testu Aptima HSV 1 & 2 assay je třeba interpretovat spolu s dalšími klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- E. Negativní výsledek testu Aptima HSV 1 & 2 assay nevylučuje možnou infekci, protože výsledky závisí na adekvátním odběru vzorků. Výsledky testu mohou být ovlivněny nesprávným odebráním vzorku, technickou chybou, klinickou fází vzorkovaných lézí nebo cílovými hladinami pod detekční mezí testu.

Funkční způsobilost analytických testů v systému Panther

Transportní médium pro viry (VTM)

Funkční způsobilost testu Aptima HSV 1 & 2 assay byla hodnocena s běžně používanými typy média VTM (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 a Remel M5). Každé médium bylo samostatně naočkováno virovými částicemi kmene HSV-1 MacIntyre nebo HSV-2 MS s koncentrací na úrovni přibližně trojnásobku limitu detekce (LoD). Každý panel byl následně přenesen podle pokynů v příbalové informaci k médiu STM. Ke zhodnocení možné interference různých typů média VTM bylo rovněž provedeno naředění panelů bez HSV (neočkových) v médiu STM a bylo provedeno testování 40 opakování na každý panel. Všechny negativní panely byly 100 % platné a negativní a všechny panely naočkované HSV-1 nebo HSV-2 byly 100 % pozitivní na příslušný typ viru HSV.

Analytická citlivost

Analytická citlivost / LoD testu Aptima HSV 1 & 2 assay byla stanovena testováním sérií panelů složených z viru HSV-1 nebo HSV-2 naředěného ve skupinových negativních klinických vzorcích v médiu STM a v médiu VTM v matrici na bázi média STM. U viru HSV-1 byly testovány virové kmeny MacIntyre a HF. U viru HSV-2 byly testovány virové kmeny MS a G. U každé koncentrace každého panelu pro každou matrici a virový kmen bylo testováno minimálně 60 opakování ve 3 šaržích reagentů.

Byla provedena pravděpodobnostní regresní analýza ke stanovení odhadovaného 95 % limitu detekce každého kmene HSV v každé z matric každé šarže. LoD byl stanoven na koncentraci, při které bylo dosaženo ≥ 95 % pozitivity replikátů podle nejvyššího výsledku ze 3 šarží reagentů.

Tabulka 4: LoD pro HSV 1 a HSV 2 v médiu VTM a STM

Typ/kmen HSV	Typ vzorku	LoD
		TCID ₅₀ /ml (95 % spolehlivost)
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 MS	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)

Ověření hodnoty LoD

Hodnota LoD byla ověřena pomocí 2 klinických izolátů HSV-1 a 2 klinických izolátů HSV-2, které byly izolovány z HSV pozitivních klinických vzorků, které byly kultivovány a kvantifikovány v dané laboratoři. Každý izolát byl testován pomocí testu Aptima HSV 1 & 2 assay s použitím 60 opakování pro 1X LoD, 3X LoD a 10X LoD. Testování bylo provedeno v matrici s médii STM a VTM u všech 4 klinických izolátů a s použitím 3 šarží reagentů. Všechny replikáty všech klinických izolátů ve všech 3 koncentracích byly detekovány testem Aptima HSV 1 & 2 assay, což prokazuje, že test je schopen přesně detekovat rozsah izolátů HSV-1 i HSV-2 při stanovené hodnotě LoD.

Souběžná infekce

Byly vytvořeny panely s virovými částicemi HSV-1 v koncentraci 3X LoD a virovými částicemi HSV-2 v koncentraci 1000X LoD a s virovými částicemi HSV-2 v koncentraci 3X LoD a HSV-1 v koncentraci 1000X LoD. Dále byly vytvořeny panely obsahující HSV-2 se 100X koncentrace HSV-1 při 3X LoD. Při všech testech byla zjištěna 100 % detekce obou typů HSV-1 i HSV-2.

Zkřížená reaktivita

Při hodnocení analytické citlivosti a specifity testu Aptima HSV 1 & 2 assay v přítomnosti necílových mikroorganismů s možností výskytu v klinických vzorcích byly vytvořeny panely necílových mikroorganismů v médiu STM s testovanou koncentrací 1×10^5 jednotek/ml u virů a koncentrací 1×10^6 jednotek/ml u ostatních mikroorganismů. Mikroorganismy byly testovány v nepřítomnosti HSV nebo v přítomnosti buď HSV-1, nebo HSV-2 při 3X LoD. Čtyřicet sedm z celkem 48 testovaných mikrobů nevykazovalo žádný vliv na výkonnost testu při koncentraci 1×10^6 jednotek/ml.

Streptococcus pneumoniae nevykazoval žádnou interferenci při koncentraci 1×10^5 jednotek/ml (Tabulka 5).

Tabulka 5: Analytická specifita

Mikroorganismus	Koncentrace
<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 kopií RNA/ml ²
Adenovirus typu 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 kopií 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}
Virus BK	1×10^5 kopií 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}
Epstein-Barr virus	1×10^5 kopií DNA/ml ³
<i>Escherichia coli</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}

Tabulka 5: Analytická specifická (pokračování)

Mikroorganismus	Koncentrace
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
Virus hepatitidy B	1×10^5 IU/ml ^{4,3}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Mycoplasma hominis</i>	1×10^6 kopií RNA/ml ²
<i>Mycoplasma orale</i>	1×10^6 kopií RNA/ml ²
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Neisseria meningitidis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
Parvovirus B19	1×10^5 TCID50/ml ³
<i>Prevotella bivia</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Propionibacterium acnes</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Proteus mirabilis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Proteus vulgaris</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus aureus</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus mitis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100 000 CFU/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
Virus varicella-zoster	1×10^5 kopií DNA/ml ³
Virus západonilské horečky	1×10^5 TCID50/ml ³

¹CFU = Colony Forming Units – kolonii tvořící jednotka.²Získané interně od společnosti Hologic, Inc.³Získané od společnosti ZeptoMetrix Corporation (Buffalo NY).⁴IU = International Unit – mezinárodní jednotka.

Interference

Tabulka 6 uvádí potenciálně interferující látky testované pomocí testu Aptima HSV 1 & 2 assay při úvodní koncentraci 5 % obj/obj (V/V), což odpovídá 100 % kapacitě stěru (Swab Capacity, SC) nebo při koncentraci 0,03 % či 5 % hmot/obj (W/V) nebo při počtu 4×10^5 leukocytů/ml. Panely byly vytvořeny pomocí média STM a hodnotil se potenciální vliv na citlivost a specifitu testu. Citlivost byla hodnocena samostatně pro HSV-1 i HSV-2 naočkováním virových částic do panelů obsahujících danou látku při 3X LoD. Specifita byla také hodnocena u HSV negativních panelů obsahujících uvedené látky.

Nebyl pozorován žádný vliv na výkonnost testu při přítomnosti reprezentativních vzorků uvedených exogenních látek v koncentraci 5 % W/V nebo V/V (100 % SC): vaginální lubrikant, antimykotický krém, výplach, ženské intimní spreje, léčiva na nachlazení, balzám na rty, tělové mléko, tělový pudr, mycí roztok ledové kyseliny octové, krém na hemoroidy, antitusika, zubní pasta a ústní voda. Spermicidní/antikoncepční gel nevykazoval žádnou interferenci při koncentraci 4 % W/V nebo 80 % SC. Žádná interference nebyla pozorována ani při přítomnosti reprezentativního vzorku antivirotik v koncentraci 5 % W/V. U následujících endogenních látek v koncentraci 5 % V/V nebo W/V (100 % SC) nebyl pozorován žádný vliv na výkonnost testu: moč, hlen a seminální tekutina. Nebyla pozorována žádná interference u následujících endogenních látek v uvedených konečných koncentracích: leukocyty (4×10^5 buněk/ml), sliny (4 % W/V / 80 % SC), protein (4 % W/V / 80 % SC), plná krev (0,5 % V/V / 10 % SC) a stolice (0,03 % W/V / 0,6 % SC).

Tabulka 6: Interferující látky

Látka	Značka/zdroj	Konečná koncentrace*
Vaginální lubrikant	KY Jelly	5 % V/V
Spermicidní/antikoncepční gel	Options Gynol II	4 % W/V
Protiplísňové krémy	Monistat 3	5 % W/V
Přípravky používané k výplachům pochvy	Up & Up Feminine Wash	5 % V/V
Ženský intimní sprej	FDS Feminine Deodorant Spray	5 % W/V
Léčiva na nachlazení	Releev	5 % W/V
Balzám na rty	Carmex	5 % W/V
Tělové mléko	Vaseline Aloe Fresh	5 % W/V
Tělový pudr	Summer's Eve Powder	5 % W/V
Mycí roztok ledové kyseliny octové	mycí roztok ledové kyseliny octové	5 % V/V
Krém na hemoroidy	Preparation H	5 % W/V
Moč	sběr moči na pracovišti	5 % V/V
Plná krev	odběr krve na pracovišti	0,5 % V/V
Leukocyty	Biological Specialty Corporation Leukocytes	4×10^5 buněk/ml
Sliny	sběr slin na pracovišti	4 % W/V
Hlen	Sigma Aldrich Mucine	0,3 % W/V
Seminální tekutina	Seminální tekutina	5 % V/V
Výkaly	Výkaly	0,03 % W/V
Antitusikum	Dayquil	5 % V/V
Zubní pasta	Sensodyne	5 % W/V
Protein	kasein	4 % W/V
Antivirotikum	Acyclovir	5 % W/V
Ústní voda	Listerine	5 % V/V

*Konečné koncentrace představují finální koncentraci (FC) ve vzorku při testování v přístroji Panther. Ve smyslu SC odběru odpovídá 5 % FC = 100 % SC; 4 % FC = 80 % SC; 0,5 % FC = 10 % SC; 0,03 % FC = 0,6 % SC.

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu Aptima HSV 1 & 2 assay byla hodnocena na 3 externích pracovištích v USA. Testování bylo provedeno 6 uživateli pomocí 3 šarží testovacích reagensů (2 uživatelé na každém pracovišti). Testování na všech pracovištích probíhalo minimálně 6 dnů. Panelové vzorky byly vytvořeny naočkováním virových částic HSV-1 a/nebo HSV-2 do média STM. Rozsah konečných koncentrací HSV-1 byl 0 TCID₅₀/ml až 86,96 TCID₅₀/ml a rozsah konečných koncentrací HSV-2 byl 0 TCID₅₀/ml až 1,63 TCID₅₀/ml.

Použitelnost testu Aptima HSV 1 & 2 assay byla hodnocena testováním HSV negativních panelů a panelů obsahujících nízké a střední koncentrace HSV-1 a HSV-2. Shoda s očekávanými výsledky dosahovala 100 % u HSV-1 a HSV-2 u negativních a středně pozitivních panelů a ≤ 100 % u panelů s koncentrací blížící se nebo nižší než 95 % LoD testu u média STM naočkovaného virovými částicemi.

Tabulka 7 uvádí shodu výsledků testu Aptima HSV 1 & 2 assay s očekávanými výsledky u všech panelů.

Tabulka 7: Shoda výsledků testu Aptima HSV 1 & 2 Assay s očekávanými výsledky

Koncentrace		Cílová konc. (TCID ₅₀ /ml)		Očekávaný výsledek		N	Shoda (n)		Shoda (%) (95 % CI)	
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 = interval spolehlivosti, Konc = koncentrace, HNeg = negativní s vysokou koncentrací, LPos = pozitivní s nízkou koncentrací, MPos = pozitivní se střední koncentrací, Neg = negativní, Pos = pozitivní.

Tabulka 8 uvádí variabilitu signálu HSV-1 a HSV-2 u pozitivních panelů s nízkou a střední koncentrací mezi jednotlivými pracovišti, jednotlivými uživateli, jednotlivými šaržemi, jednotlivými dny, jednotlivými testy, v rámci jednotlivých testů a celkovou variabilitu panelů s pozitivním výsledkem testu Aptima HSV 1 & 2 assay.

Tabulka 8: Variabilita signálu testu Aptima HSV 1 & 2 Assay u pozitivních panelů s nízkou a střední koncentrací

Virus	Koncentrace	N	Průměrný Tčas	Mezi pracovišti	Mezi uživateli	Mezi šaržemi	Mezi dny	Mezi cykly	V rámci cyklů	Celkem
				SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
				(%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)

Konc = koncentrace, CV = variační koeficient, LPos = pozitivní s nízkou koncentrací, MPos = pozitivní se střední koncentrací, SD = směrodatná odchylka.

Poznámka: Variabilita některých faktorů může dosahovat záporných číselných hodnot. K tomu dochází v případě, že je variabilita u těchto faktorů velmi nízká. V takových případech je hodnota SD a CV uvedena jako 0.

Funkčnost metody při testování klinické matrice viru HSV-2 nepřírodně se vyskytujícího v ústech

Pomocí testu Aptima HSV 1 & 2 assay bylo provedeno testování matrice z klinických vzorků nepřírodněho výskytu viru za účelem získání dalších dat o výkonnosti při detekci výskytu HSV-2 v ústních výtěrech. Virové částice HSV-2 MS byly naočkovány na HSV negativní klinické orální matrice média VTM nebo STM s 3X LoD nebo 1000X LoD u obou médií. Uživatelé bez znalosti obsahu panelu testovali patnáct HSV negativních vzorků, dvacet pět vzorků HSV-2 při 3X LoD a dvacet pět vzorků HSV-2 při 1000X LoD na obou maticích VTM a STM. Výsledky ukazují 100 % detekci u panelů nepřírodněho orálního výskytu s pozitivním HSV-2 a 0 % detekci u všech negativních vzorků v obou klinických maticích STM i VTM.

Funkční způsobilost analytických testů v systému Panther

Klinická funkčnost

Byla provedena prospektivní multicentrická klinická studie hodnotící charakteristiky výkonnosti testu Aptima HSV 1 & 2 assay. Do studie byli zařazeni muži a ženy (n = 839) s aktivními kožními lézemi v anogenitální¹ nebo perorální² oblasti na 19 klinických pracovištích v USA, včetně vzorků z ambulancí asistované reprodukce, dermatologie, pediatrických/adolescentních ordinací, vzorků infekce sexuálně přenosnými chorobami, privátních ambulancí a veřejných klinik, nemocnic, univerzit a klinických výzkumných pracovišť. Z každé léze u každého subjektu byly odebrány dva (2) stěry: jeden byl odebrán komerčně dostupným stěrem ze soupravy pro odběr vzorků VTM a jeden pomocí stěru ze soupravy pro odběr vzorků pro více typů stěrů Aptima Multitest. Vzorky byly zpracovány podle pokynů v příbalové informaci a byly otestovány pomocí virové kultivace v systému pro virovou typizaci ELVIS HSV ID a D³ Typing Test a pomocí ověřené obousměrné metody PCR/sekvenace za účelem vytvoření interpretace smíšené referenční metody pro HSV-1 a HSV-2. Interpretace smíšené referenční metody byla hodnocena jako: A) pozitivní v případě pozitivního výsledku pro typ viru HSV (HSV-1 nebo HSV-2) pomocí virové kultivace v systému pro virovou typizaci ELVIS HSV ID a D³ Typing Test nebo pomocí PCR/sekvenace, B) negativní v případě negativního výsledku pro jeden typ viru HSV pomocí virové kultivace v systému pro virovou typizaci ELVIS HSV ID a D³ Typing Test nebo pomocí PCR/sekvenace (nebo pozitivním výsledku na druhý typ HSV³). Vzorky byly testovány pomocí testu pro HSV-1 a HSV-2 se schválením organizace FDA za účelem objasnění typu HSV v následujících případech: A) PCR/sekvenace detekovalo přítomnost HSV-1 i HSV-2 a B) kombinované výsledky složené referenční metody byly pozitivní na oba typy HSV.

Klinické charakteristiky testu Aptima HSV 1 & 2 assay při detekci HSV-1 a HSV-2 byly hodnoceny u vzorků z lézí v anogenitální a orální oblasti. Testování pomocí Aptima HSV 1 & 2 assay bylo provedeno ve 3 externích laboratořích. Bylo provedeno 108 analýz pomocí testů Aptima HSV 1 & 2 assay. 107 (99,1 %) analýz bylo platných a 1 analýza (0,9 %) byla neplatná z důvodu chyby hardwaru. U platných analýz pomocí testu Aptima HSV 1 & 2 assay bylo zpracováno celkem 1 629 vzorků. 1 628 (99,9 %) vykazovalo platný konečný výsledek a 1 (0,1 %) vykazoval neplatný konečný výsledek z důvodu chyby hardwaru (tento vzorek nebyl znovu testován s ohledem na nedostatečný objem vzorku). Celkem 7 vzorků (0,4 %) vykazovalo prvotní neplatný výsledek, 6 vzorků bylo poté znovu testováno a vykazovalo platné výsledky.

Do analýz výkonnosti bylo možné zařadit celkem 790 subjektů (285 mužů a 505 žen). 544 subjektů mělo léze v anogenitální oblasti a 246 subjektů mělo léze v oblasti úst.

U vzorků lézí z anogenitální oblasti dosahovala detekce HSV-1 a HSV-2 citlivosti 93,4 % až 98,4 % a specifity 92,8 % až 99,8 % (Tabulka 9 a Tabulka 10).

Tabulka 9 uvádí citlivost, specifitu, pozitivní prediktivní hodnotu (PPV) a negativní prediktivní hodnotu (NPV) testu Aptima HSV 1 & 2 assay při detekci HSV-1 a hodnotu prevalence viru HSV-1 (podle složené referenční metody) v lézích v anogenitální oblasti u každého typu vzorku.

1 Zahrnuje stěry z břicha, konečníku, hýždí, děložního krčku, předkožky, glans penis, třísel, mons pubis, penisu, perianální oblasti, perinea, rekta, skrota, stehen, močové trubice / ústí močové trubice, vagíny, perivaginální oblasti a z dalších míst.

2 Zahrnuje stěry z dásní, rtů, úst, jazyka a dalších míst.

3 Pomocí systému pro virovou typizaci ELVIS HSV ID a D³ Typing Test nelze detekovat vzorky se souběžnými infekcemi různými původci. Typizace HSV-1 je možná pouze u HSV-2 negativních vzorků.

Tabulka 9: Klinické charakteristiky testu Aptima HSV 1 & 2 Assay při detekci HSV-1 u vzorků z anogenitálních lézí dle jednotlivých typů vzorků

Typ vzorku	Umístění léze	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Citlivost v % (95 % CI) ³	Specifičnost v % (95 % CI) ³	PPV v % (95 % CI) ⁴	NPV v % (95 % CI) ⁴
VTM	Anogenitální	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)
	Anogenitální oblast, muži	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)
	Anogenitální oblast, ženy	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)
Stěr Aptima s médiem STM	Anogenitální	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)
	Anogenitální oblast, muži	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)
	Anogenitální oblast, ženy	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)

Stěr Aptima s médiem STM = vzorek ze soupravy pro více typů stěrů Aptima Multitest, Prev = prevalence, VTM = vzorek s médiem VTM.

¹Dva (2) vzorky vykazovaly negativní výsledek kultivace a 1 vzorek vykazoval pozitivní výsledek kultivace bez možnosti typizace HSV.

²Jeden (1) vzorek vykazoval negativní výsledek kultivace a 1 vzorek vykazoval pozitivní výsledek kultivace bez možnosti typizace HSV.

³Hodnota CI.

⁴95 % CI pro PPV byl vypočítán z přesné hodnoty 95 % CI pro poměr pravděpodobnosti pozitivního výsledku, 95 % CI pro NPV byl vypočítán z přesné hodnoty 95 % CI pro poměr pravděpodobnosti negativního výsledku.

Tabulka 10 uvádí citlivost, specifičnost, PPV a NPV testu Aptima HSV 1 & 2 assay při detekci HSV-2 a hodnotu prevalence viru HSV-2 (podle složené referenční metody) u každého typu vzorku lézí v anogenitální oblasti.

Tabulka 10: Klinické charakteristiky testu Aptima HSV 1 & 2 Assay při detekci HSV-2 u vzorků z anogenitálních lézí dle jednotlivých typů vzorků

Typ vzorku	Umístění léze	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Citlivost v % (95 % CI) ³	Specifičnost v % (95 % CI) ³	PPV v % (95 % CI) ⁴	NPV v % (95 % CI) ⁴
VTM	Anogenitální	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)
	Anogenitální oblast, muži	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)
	Anogenitální oblast, ženy	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)
Stěr Aptima s médiem STM	Anogenitální	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)
	Anogenitální oblast, muži	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)
	Anogenitální oblast, ženy	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)

Stěr Aptima s médiem STM = vzorek ze soupravy pro více typů stěrů Aptima Multitest, Prev = prevalence, VTM = vzorek s médiem VTM.

¹Všech 8 vzorků vykazovalo negativní výsledek kultivace.

²Všechny 4 vzorky vykazovaly negativní výsledek kultivace.

³Hodnota CI.

⁴95 % CI pro PPV byl vypočítán z přesné hodnoty 95 % CI pro poměr pravděpodobnosti pozitivního výsledku, 95 % CI pro NPV byl vypočítán z přesné hodnoty 95 % CI pro poměr pravděpodobnosti negativního výsledku.

Tabulka 11 uvádí citlivost, specifitu, PPV a NPV testu Aptima HSV 1 & 2 assay při detekci HSV-1 a hodnotu prevalence viru HSV-1 (podle složené referenční metody) u každého typu vzorku lézí v perorální oblasti. Citlivost detekce přítomnosti HSV-1 ve vzorcích z oblasti úst byla 97,5 % u stěrů Aptima Multitest a 81,5 % u vzorků v médiu VTM. Z celkem 22 vzorků v médiu VTM s falešně negativním výsledkem pro HSV-1 vykazovalo 19 vzorků negativní výsledek kultivace. Specifita detekce přítomnosti HSV-1 byla 88,7 % u stěrů Aptima Multitest a 99,2 % u vzorků v médiu VTM. Devět (9) z celkem 14 stěrů Aptima Multitest s falešně pozitivním výsledkem pocházelo ze 2 z celkem 17 odběrových pracovišť, která odebírala vzorky z oblasti úst.

Tabulka 11: Klinické charakteristiky testu Aptima HSV 1 & 2 Assay při detekci HSV-1 u vzorků lézí z oblasti úst dle jednotlivých typů vzorků

Typ vzorku	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Citlivost v % (95 % CI) ³	Specifičnost v % (95 % CI) ³	PPV v % (95 % CI) ⁴	NPV v % (95 % CI) 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)
Stěr Aptima s médiem 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)

Stěr Aptima s médiem STM = vzorek ze soupravy pro více typů stěrů Aptima Multitest, Prev = prevalence, VTM = vzorek s médiem VTM.

¹Devatenáct vzorků vykazovalo negativní výsledek kultivace a 1 vzorek vykazoval pozitivní výsledek kultivace bez možnosti typizace HSV.

²Všechny 3 vzorky vykazovaly negativní výsledek kultivace.

³Hodnota CI.

⁴95 % CI pro PPV byl vypočítán z přesné hodnoty 95 % CI pro poměr pravděpodobnosti pozitivního výsledku, 95 % CI pro NPV byl vypočítán z přesné hodnoty 95 % CI pro poměr pravděpodobnosti negativního výsledku.

Pozorovaná prevalence infekcí virem HSV-2 v oblasti úst byla velmi nízká (0,9 % až 1,3 %) (Tabulka 12), protože většina ústních infekcí virem HSV je způsobena typem viru HSV-1. Z celkového počtu 235 vzorků v médiu VTM a 237 stěrů Aptima Multitest vykazovaly pouze 2 vzorky v médiu VTM a 3 stěry Aptima Multitest pozitivní výsledek založený na referenčním testování. Citlivost detekce přítomnosti HSV-2 ve vzorcích z oblasti úst byla 66,7 % u stěrů Aptima Multitest a 100 % u vzorků v médiu VTM. Jeden vzorek Aptima Multitest získaný z léze v oblasti úst s falešně negativním výsledkem vykazoval negativní výsledek kultivace. Jak je uvedeno výše, analytická citlivost detekce viru HSV-2 s použitím vzorků nepřírozeného výskytu v ústech byla 100 %. Specifita detekce přítomnosti HSV-2 byla 100 % u stěrů Aptima Multitest a 100 % u vzorků v médiu VTM.

Tabulka 12 uvádí citlivost, specifitu, PPV a NPV testu Aptima HSV 1 & 2 assay při detekci HSV-2 a hodnota prevalence viru HSV-2 (podle složené referenční metody) u každého typu vzorku lézí v perorální oblasti.

Tabulka 12: Klinické charakteristiky testu Aptima HSV 1 & 2 Assay při detekci HSV-2 u vzorků lézí z oblasti úst dle jednotlivých typů vzorků

Typ vzorku	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Citlivost v % (95 % CI) ²	Specifičnost v % (95 % CI) ²	PPV v % (95 % CI) ³	NPV v % (95 % CI) 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)
Stěr Aptima s médiem 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)

Stěr Aptima s médiem STM = vzorek ze soupravy pro více typů stěrů Aptima Multitest, Prev = prevalence, VTM = vzorek s médiem VTM.

¹Tento vzorek vykazoval negativní výsledek kultivace.

²Hodnota CI.

³95 % CI pro PPV byl vypočítán z přesné hodnoty 95 % CI pro poměr pravděpodobnosti pozitivního výsledku, 95 % CI pro NPV byl vypočítán z přesné hodnoty 95 % CI pro poměr pravděpodobnosti negativního výsledku.

Referenční rozmezí a očekávané hodnoty

Prevalence

Prevalence infekce virem HSV-1 a HSV-2 u různých populací závisí na rizikových faktorech pacienta, například na věku a životním stylu, a na citlivosti testu při detekci infekce. Tabulka 13 uvádí souhrn prevalence virů HSV-1 a HSV-2 dle typu vzorku a věkové skupiny pacientů při stanovení pomocí testu Aptima HSV 1 & 2 assay v rámci studie klinických charakteristik.

Tabulka 13: Pozitivita testu Aptima HSV 1 & 2 Assay dle kategorie umístění léze a věkové skupiny¹

Umístění léze Věková skupina	% prevalence (počet pozitivních / počet testovaných)			
	Vzorek v médiu VTM		Vzorek získaný soupravou pro více typů stěrů Aptima Multitest	
	HSV-1 pozitivní	HSV-2 pozitivní	HSV-1 pozitivní	HSV-2 pozitivní
Všechna umístění lézí				
Všechny věkové skupiny	21,9 (170/778)	33,0 (257/778)	26,0 (203/782)	35,3 (276/782)
< 2 roky	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)
2 až 11 let	30,8 (4/13)	0,0 (0/13)	50,0 (7/14)	0,0 (0/14)
12 až 21 let	21,5 (23/107)	40,2 (43/107)	24,8 (27/109)	42,2 (46/109)
22 až 30 let	18,9 (63/334)	36,8 (123/334)	21,4 (72/337)	39,5 (133/337)
31 až 40 let	20,7 (30/145)	33,8 (49/145)	27,3 (39/143)	35,7 (51/143)
41 až 50 let	22,7 (17/75)	26,7 (20/75)	25,7 (19/74)	28,4 (21/74)
51 až 60 let	30,9 (21/68)	22,1 (15/68)	37,7 (26/69)	24,6 (17/69)
> 60 let	32,3 (10/31)	22,6 (7/31)	35,5 (11/31)	25,8 (8/31)
Anogenitální léze				
Všechny věkové skupiny	13,4 (72/537)	47,5 (255/537)	13,5 (73/539)	50,8 (274/539)
< 2 roky	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
2 až 11 let	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
12 až 21 let	20,7 (17/82)	52,4 (43/82)	20,2 (17/84)	54,8 (46/84)
22 až 30 let	14,2 (38/268)	45,5 (122/268)	14,4 (39/270)	48,9 (132/270)
31 až 40 let	11,5 (12/104)	47,1 (49/104)	12,6 (13/103)	49,5 (51/103)
41 až 50 let	9,1 (4/44)	45,5 (20/44)	4,8 (2/42)	50,0 (21/42)
51 až 60 let	3,7 (1/27)	51,9 (14/27)	7,1 (2/28)	57,1 (16/28)
> 60 let	0,0 (0/10)	70,0 (7/10)	0,0 (0/10)	80,0 (8/10)
Léze v oblasti úst				
Všechny věkové skupiny	40,7 (98/241)	0,8 (2/241)	53,5 (130/243)	0,8 (2/243)
< 2 roky	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)
2 až 11 let	33,3 (4/12)	0,0 (0/12)	53,8 (7/13)	0,0 (0/13)
12 až 21 let	24,0 (6/25)	0,0 (0/25)	40,0 (10/25)	0,0 (0/25)
22 až 30 let	37,9 (25/66)	1,5 (1/66)	49,3 (33/67)	1,5 (1/67)
31 až 40 let	43,9 (18/41)	0,0 (0/41)	65,0 (26/40)	0,0 (0/40)
41 až 50 let	41,9 (13/31)	0,0 (0/31)	53,1 (17/32)	0,0 (0/32)
51 až 60 let	48,8 (20/41)	2,4 (1/41)	58,5 (24/41)	2,4 (1/41)
> 60 let	47,6 (10/21)	0,0 (0/21)	52,4 (11/21)	0,0 (0/21)

¹Žádný subjekt nevykazoval pozitivní výsledek testu Aptima HSV 1 & 2 assay pro oba typy viru HSV-1 a HSV-2.

Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty pro hypotetickou míru prevalence

Tabulka 14 uvádí odhadované pozitivní a negativní prediktivní hodnoty (PPV a NPV) testu Aptima HSV 1 & 2 assay při detekci virů HSV-1 a HSV-2 s různou hypotetickou mírou prevalence dle typu vzorku. Tyto výpočty vycházejí z celkové odhadované citlivosti a specifity jednotlivých typů vzorků při studii klinických charakteristik.

Tabulka 14: Hypotetické hodnoty PPV a NPV k detekci virů HSV-1 a HSV-2 dle typu vzorku a kategorie umístění léze

Typ vzorku	Umístění léze	Prevalence (%)	HSV-1		HSV-2	
			PPV (%)	NPV (%)	PPV (%)	NPV (%)
Vzorek v médiu VTM	Anogenitální	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
		50	99,8	93,8	97,5	96,9
	Orální	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
		50	99,0	84,3	100	100
Stěr Aptima s médiem STM	Anogenitální	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
		50	99,5	94,9	93,2	98,4
	Orální	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

Stěr Aptima s médiem STM = vzorek ze soupravy pro více typů stěrů Aptima Multitest, VTM = vzorek s médiem VTM.

Distribuce hodnoty Tčas u pozitivních kontrol testu Aptima HSV 1 & 2 Assay

Tabulka 15 uvádí distribuci hodnot Tčas u pozitivních kontrol testu Aptima HSV 1 & 2 assay ze všech analýz pomocí testu Aptima HSV 1 & 2 assay provedených v rámci studie klinických charakteristik.

Tabulka 15: Distribuce hodnot Tčas u testu Aptima HSV 1 & 2 Assay

Pozitivní kontroly

Statistika	Tčas	
	HSV-1	HSV-2
N	107	107
Průměr	20,03	22,01
Medián	19,8	21,7
SD	1,198	1,612
CV (%)	6,0	7,3
Minimum	18,1	19,5
Maximum	22,9	26,2

CV = variační koeficient, SD = směrodatná odchylka.

Literatura

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.

Kontaktní informace a historie revizí



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



Adresa zadavatele v Austrálii:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



E-mailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb dané země naleznete na adrese www.hologic.com/support.

Závažné incidenty, ke kterým došlo v souvislosti s prostředkem v Evropské unii, je třeba nahlásit výrobci a příslušnému úřadu členského státu, kde sídlí uživatel nebo pacient.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion a související loga jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc. nebo jejích dceřiných společností v USA nebo v jiných zemích.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce www.hologic.com/patents.

©2016–2026 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-23071-2601 Rev. 002

2026-03

Historie revizí	Datum	Popis
AW-23071-2601 Rev. 001	Říjen 2022	- Vytvořený návod k použití testu APTIMA HSV 1 & 2 assay AW-23071 Rev. 001 nahradí dokument AW-15346 Rev. 005. Doplnění podrobnějších údajů a zpracování návrhu nového PI k zajištění shody s nařízením o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro (mimo USA i na území USA) - Přidání souhrnu údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti - Aktualizace části Varování a bezpečnostní opatření - Aktualizace části Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně - Aktualizace části věnované systému Panther v kapitole Postup testu na systému Panther - Odstranění původních tabulek 13 až 18 a odpovídající změna číslování - Aktualizované kontaktní údaje včetně: zástupce pro ES, označení CE, informací o zástupci v Austrálii a oddělení technické podpory - Různé stylistické úpravy a změny formátování

Historie revizí	Datum	Popis
AW-23071-2601 Rev. 002	Březen 2026	• Aktualizace tabulky EU vět o nebezpečnosti o nejnovější větu o nebezpečnosti. • Přidání dvou tvrzení do oddílu Varování a bezpečnostní opatření. Jedno se týká správné praxe molekulárních laboratoří a monitorování prostředí a druhé odmítnutí transportních zkumavek, které neobsahují stěr. • Aktualizace odstavce o skladování vzorků po testování zahrnutím možnosti uzavřít transportní zkumavky na vzorek víčkem. Přidání poznámky o podmínkách, které mohou ovlivnit možnost napipetovat větší počet alikvotů. • Aktualizace tabulky Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně. • Aktualizace pokynů v oddílu Rekonstituce reagensů/ příprava nové soupravy. • Aktualizace pokynů k manipulaci se vzorky zvýšením počtu samostatných alikvotů z jedné zkumavky se vzorkem na 5 a povolením protřepání na vortexové třepače za určitých podmínek. • Vyjasnění pokynů k přípravě systému. • Do oddílu o interpretaci výsledků byla přidána věta o tom, že v případě neplatného výsledku opakovaného testu je nutno odebrat nový vzorek. • Pro lepší srozumitelnost upraven nadpis oddílu o nepřírozeném výskytu v ústech na znění Funkčnost metody při testování klinické matrice viru HSV-2 nepřírozeně se vyskytujícího v ústech • Různé aktualizace stylu, ochranných známek a formátování.