

Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

Istruzioni per l'uso
Per uso diagnostico *in vitro*
Solo per l'esportazione dagli U.S.A.

Informazioni generali	2
Uso previsto	2
Sintesi e spiegazione dell'analisi	2
Principi della procedura	3
Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione	3
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	6
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	6
Panther System	9
Reagenti e materiali forniti	9
Materiali richiesti ma disponibili separatamente	10
Procedura di analisi del Panther System	11
Note procedurali	14
Controllo della qualità	16
Interpretazione del test	17
Limiti	18
Prestazione del test di analisi con Panther System	19
Terreno di trasporto virale (VTM)	19
Sensibilità analitica	19
Verifica LoD	19
Co-infezione	20
Reattività crociata	20
Interferenza	21
Riproducibilità	23
Prestazioni dell'HSV-2 in una matrice clinica orale artificiale	24
Prestazione del test clinico Panther System	25
Prestazione clinica	25
Range di riferimento e valori attesi	28
Bibliografia	31
Recapiti e Cronologia delle revisioni	32

Informazioni generali

Uso previsto

Il test Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (Aptima HSV 1 & 2 Assay) (test per i virus dell'herpes simplex 1 e 2 Aptima) è un test *in vitro* di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) in real time per il rilevamento qualitativo e la differenziazione dell'RNA messaggero (mRNA) dal virus dell'herpes simplex (HSV) di tipo 1 (HSV-1) e di tipo 2 (HSV-2) sul Panther™ System.

Il test può essere utilizzato per analizzare campioni di tampone raccolti da un medico da lesioni cutanee nella regione anogenitale o orale, e collocati in un terreno di trasporto virale (Viral Transport Media, VTM) o un terreno di trasporto per campioni (Specimen Transport Medium, STM) Aptima. Il test sarà utilizzato come ausilio nella diagnosi di infezioni da HSV-1 e/o HSV-2 in pazienti sintomatici di sesso maschile e femminile.

Il dispositivo non è realizzato per essere utilizzato con liquido cerebrospinale o per screening prenatale.

Sintesi e spiegazione dell'analisi

I tipi di virus dell'herpes simplex 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2) sono caratterizzati da DNA a doppio filamento e appartengono alla sottofamiglia alpha herpesviridae. Sebbene l'HSV-1 e l'HSV-2 siano strettamente correlati, sono geneticamente e sierologicamente differenti (1). Negli Stati Uniti, dal 2005 al 2010, la sieroprevalenza di HSV-1 era pari al 53,9% e la sieroprevalenza di HSV-2 era pari al 15,7% (2).

Generalmente, HSV-1 e HSV-2 infettano la cute abrasa o la mucosa orale o genitale, causando dolorose lesioni. In seguito a una fase sintomatica iniziale, i virus provocano infezioni latenti nei gangli dei nervi sensoriali causando nell'uomo infezioni permanenti e incurabili. Diversi eventi, quali stress fisico o emotivo, febbre, luce ultravioletta e danni ai tessuti, possono causare la riattivazione virale comportando lesioni ricorrenti o l'assenza di sintomi (1,3).

Sebbene sia HSV-1 sia HSV-2 possano infettare le mucose orali e genitali, HSV-1 interessa la maggior parte delle infezioni non genitali. L'infezione genitale da HSV è una delle infezioni sessualmente trasmissibili più diffuse negli Stati Uniti. Sebbene HSV-2 rappresenti tuttora la causa più comune di herpes genitale, studi recenti dimostrano un incremento dell'incidenza di herpes genitali causati da HSV-1 (4). Le infezioni genitali da HSV possono favorire il contagio e la trasmissione di HIV (5). Inoltre, le donne in stato di gravidanza con infezione genitale da HSV primaria a lungo termine hanno il 50% di probabilità di trasmettere il virus al feto e corrono un rischio maggiore di aborto spontaneo e parto prematuro (6).

Un'elevata percentuale di infezioni da HSV asintomatiche non viene riconosciuta dal paziente o dal medico (7). Una diagnosi accurata di infezioni da HSV migliora la consulenza, favorisce l'adozione di un trattamento efficace e riduce il contagio (4).

Storicamente, le infezioni da HSV venivano diagnosticate utilizzando una coltura virale seguita da tipizzazione HSV tramite immunofluorescenza, ossia procedure che richiedono molto tempo e lavoro in laboratorio. I test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) hanno dimostrato di essere più sensibili rispetto ai metodi di coltura e forniscono un risultato in tempi decisamente più rapidi (4).

Aptima HSV 1 & 2 Assay è un test NAAT sviluppato per l'utilizzo sul Panther System automatico che si avvale di cattura del target, TMA e rilevamento in tempo reale di HSV-1, HSV-2 e controllo interno (IC). Aptima HSV 1 & 2 Assay amplifica e rileva gli mRNA per HSV-1 e HSV-2 (8). Tali RNA sono espressi dal genoma virale durante il ciclo di infezione e vengono condizionati nelle particelle virali dell'HSV-1 e dell'HSV-2 prima del rilascio del virus dalle cellule infette (9). Aptima HSV 1 & 2 Assay, quindi, rileva le cellule infettate dal virus e le stesse particelle del virus mature.

Principi della procedura

Aptima HSV 1 & 2 Assay comprende tre procedimenti principali che avvengono tutti in un'unica provetta sul Panther System: cattura del target, amplificazione del target mediante TMA e rilevamento dei prodotti di amplificazione (amplicone) mediante sonde marcate con composti fluorescenti (torce). Il test integra un IC in ogni test per monitorare la cattura dell'acido nucleico mirata, l'amplificazione e il rilevamento.

I campioni vengono raccolti o trasferiti in una provetta contenente un STM che provoca la lisi delle cellule, libera l'mRNA e lo protegge dalla degradazione durante la conservazione. Quando viene eseguito il test Aptima HSV 1 & 2 Assay, l'mRNA target viene isolato dal campione mediante oligomeri di cattura legati a microparticelle magnetiche. Gli oligomeri di cattura contengono sequenze complementari a regioni specifiche delle molecole target dell'mRNA dell'HSV, oltre a un filamento di residui di deossiadenosina. Durante il procedimento di ibridizzazione, le regioni specifiche delle sequenze degli oligomeri di cattura si legano a regioni specifiche della molecola target di mRNA dell'HSV. Il complesso oligomero di cattura:target viene quindi catturato fuori dalla soluzione mediante riduzione della temperatura di reazione fino a temperatura ambiente. Questa riduzione della temperatura permette che si verifichi l'ibridizzazione fra la regione della deossiadenosina sull'oligomero di cattura e le molecole di poli-deossitimidina unite con legame covalente alle particelle magnetiche. Le microparticelle, incluse le molecole target catturate di mRNA dell'HSV a esse legate, vengono attratte sul lato della provetta di reazione usando dei magneti, e il supernatante viene aspirato. Le particelle vengono lavate per rimuovere la matrice residua di campione che potrebbe contenere inibitori dell'amplificazione.

Una volta completata la cattura del target, l'mRNA dell'HSV viene amplificato mediante TMA: un metodo di amplificazione degli acidi nucleici basato su trascrizione che utilizza due enzimi, la transcriptasi inversa MMLV (virus della leucemia murina di Moloney) e la polimerasi dell'RNA T7. La transcriptasi inversa viene usata per generare una copia del DNA della sequenza dell'mRNA target contenente una sequenza promotore per la polimerasi dell'RNA T7. La polimerasi dell'RNA T7 produce copie multiple di amplicone di RNA dal modello della copia di DNA.

Il rilevamento si ottiene utilizzando torce di acido nucleico monofilamento presenti durante l'amplificazione del target e che ibridizzano specificamente con l'amplicone in tempo reale. Ogni torcia presenta un fluoroforo e un quencher. Il quencher sopprime la fluorescenza del fluoroforo in quanto è realizzato per essere in stretta prossimità quando non ibridizzato sull'amplicone. Quando la torcia si lega all'amplicone, il quencher viene allontanato dal fluoroforo ed emetterà un segnale a una specifica lunghezza d'onda quando eccitato da una sorgente luminosa. Più torce ibridizzano quando è presente una discreta quantità di amplicone. L'incremento del segnale fluorescente dall'amplificazione progressiva è rilevato mediante fluorometri nel Panther System. Il Panther System può rilevare e discriminare fra i tre segnali fluorescenti corrispondenti a HSV-1, HSV-2 e prodotti dell'amplificazione del IC. La fluorescenza (misurata in unità di fluorescenza relativa [relative fluorescence units, RFU]) è monitorata nel tempo per produrre una curva di emergenza fluorescente in tempo reale per ciascun colorante reporter. Il software del Panther System confronta le curve di emergenza fluorescenti sui tempi di cutoff fissi con i risultati del report (TTime) per HSV-1, HSV-2 e IC.

Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione

L'SSP (Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione) è disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed), dove è collegata agli identificativi del dispositivo (UDI-DI di base). Per individuare l'SSP relativa al test Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay, fare riferimento al Basic Unique Device Identifier (BUDI): **54200455DIAGAPTHSV12S7**.

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per uso professionale.
- C. Al fine di ridurre il rischio di risultati non validi, leggere attentamente l'intero foglietto illustrativo e il *Panther/Panther Fusion™ System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System) prima di eseguire questo test.

Informazioni pertinenti al laboratorio

- D. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- E. Attenersi alle consuete precauzioni di laboratorio. Non pipettare con la bocca. Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro. Quando si maneggiano campioni biologici e reagenti del kit, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti del kit.
- F. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5-3,5% (da 0,35 M a 0,5 M).
- G. Smaltire tutti i materiali che sono entrati in contatto con campioni e reagenti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore (10, 11, 12, 13). Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro.
- H. Adottare buone pratiche standard per i laboratori di biologia molecolare, incluso il monitoraggio ambientale.

Informazioni pertinenti ai campioni

- I. Le date di scadenza per i kit di trasporto dei campioni si riferiscono alla raccolta/al trasporto di campioni e non all'analisi dei campioni. I campioni raccolti/trasferiti in qualsiasi momento precedente a queste date di scadenza rimangono validi per l'analisi purché siano stati trasportati e conservati secondo le istruzioni incluse nel foglietto illustrativo, anche se la data di scadenza indicata sulla provetta di trasporto è superata.
- J. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali (10, 11, 12). Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento devono essere stabiliti dal direttore del laboratorio (13). Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo di Aptima HSV 1 & 2 Assay e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire questa procedura.
- K. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione biologico per assicurarne l'integrità. Infatti, non è stata valutata la stabilità del campione biologico in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate.
- L. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. Prestare particolare attenzione a evitare la contaminazione provocata dalla diffusione degli aerosol quando si allentano o si tolgono i tappi dei contenitori dei campioni biologici. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.
- M. In certe condizioni, i tappi delle provette di trasporto Aptima possono liberare liquido quando vengono forati. Per maggiori informazioni, consultare la *Procedura di analisi* nella corrispondente confezione.
- N. Se il laboratorio riceve una provetta di raccolta del campione di tampone multitest Aptima™ senza tampone, con 2 tamponi o con un tampone non fornito da Hologic, il campione deve essere rifiutato. Prima di scartare una provetta per il trasporto di tamponi priva di tampone, verificare che non si tratti di una provetta Aptima per il trasferimento di campioni, dato che non contiene il tampone.

Informazioni pertinenti al test

- O. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti del test provenienti da kit con numeri di lotto master diversi. Controlli e liquidi per test possono essere scambiati.
- P. Evitare la contaminazione microbica e da nucleasi dei reagenti.
- Q. Tappare e conservare tutti i reagenti del test alle temperature specificate. La prestazione del test può essere compromessa dall'uso di reagenti di test conservati in modo inappropriato. Consultare *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti e Procedura di analisi del Panther System* per maggiori informazioni.
- R. Non combinare reagenti o liquidi del test senza istruzioni specifiche. Non rabboccare i flaconi di reagenti o liquidi. Il Panther System verifica i livelli dei reagenti.
- S. Alcuni reagenti di questo kit riportano, sulle rispettive etichette, delle indicazioni di pericolo e dei simboli di sicurezza.

Nota: le comunicazioni di pericolo utilizzano le classificazioni delle schede di sicurezza (SDS) dell'UE. Per informazioni relative alla comunicazione sui pericoli specifiche per la propria regione, fare riferimento alla scheda SDS specifica della regione nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologicsds.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli alla pagina <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informazioni sui rischi UE	
—	Enzyme Reagent HEPES 1 - 5% TRITON X-100 1 - 5% H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto/recipiente presso un impianto di smaltimento rifiuti autorizzato.
—	Enzyme Reconstitution Solution GLICERINA 20 - 25% TRITON X-100 5 - 10% HEPES 1 - 5% — H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto/recipiente presso un impianto di smaltimento rifiuti autorizzato.
—	Promoter Reagent MAGNESIUM CHLORIDE 60 - 65% — H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto/recipiente presso un impianto di smaltimento rifiuti autorizzato.
—	Target Capture Reagent HEPES 5 - 10% EDTA 1 - 5% LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 - 5% — H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto/recipiente presso un impianto di smaltimento rifiuti autorizzato.
—	Amplification Reagent MAGNESIUM CHLORIDE 60 - 65% — H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il contenuto/recipiente presso un impianto di smaltimento rifiuti autorizzato.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

A. La seguente tabella mostra le condizioni di conservazione e la stabilità di reagenti e controlli.

Reagente	Conserv. a confezione chiusa	Kit aperto (ricostituito)	
		Conserv.	Stabilità
Reagente di amplificazione	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione e amplificazione	Da 15 °C a 30 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ¹
Reagente enzimatico	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione enzimatica	Da 15 °C a 30 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ¹
Reagente promotore	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione promotore	Da 15 °C a 30 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ¹
Reagente di cattura del target	Da 15 °C a 30 °C	Da 15 °C a 30 °C ²	30 giorni ¹
Controllo negativo	Da 2 °C a 8 °C		Fiala monouso
Controllo positivo	Da 2 °C a 8 °C		Fiala monouso
Controllo interno	Da 2 °C a 8 °C		Fiala monouso

¹Quando i reagenti vengono rimossi dal Panther System, devono essere immediatamente riportati alle loro temperature di conservazione appropriate.

²Condizione di conservazione per il reagente di cattura del target di lavoro (reagente di cattura del target con controllo interno aggiunto).

- B. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e il reagente di cattura del target di lavoro (wTCR) dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master, a seconda di quale data cada per prima.
- C. I reagenti conservati sul Panther System sono stabili per 120 ore quando sono conservati sullo strumento.
- D. I controlli sono stabili fino alla data riportata sulle fiale.
- E.  Il reagente promotore e il reagente promotore ricostituito sono fotosensibili. Proteggere questi reagenti dalla luce durante la conservazione e la preparazione per l'uso.
- F. Evitare la contaminazione crociata durante la manipolazione e la conservazione del reagente. Prima della conservazione,appare sempre tutti i reagenti ricostituiti con nuovi tappi del reagente.
- G. **Non congelare i reagenti.**

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Nota: maneggiare tutti i campioni biologici come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.

Nota: prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.

È possibile utilizzare campioni di tampone raccolti da un medico da lesioni anogenitali e orali collocati nell'STM o nel VTM.

I campioni delle lesioni possono essere raccolti utilizzando:

- Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima™ (per STM);
- Kit di raccolta VTM disponibile in commercio (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 e Remel M5)

A. Istruzioni per la raccolta

Fare riferimento al foglietto illustrativo del kit di raccolta dei campioni appropriato per istruzioni specifiche sulla raccolta (Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima, per i campioni raccolti in STM, o Kit di trasporto dei campioni Aptima™, per i campioni raccolti in VTM).

B. Trasporto e conservazione dei campioni prima dell'analisi

1. Campioni di tampone raccolti nel Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima
 - a. Trasportare e conservare il campione nella provetta di trasporto dei campioni di tampone Aptima a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C fino a un massimo di 60 giorni dopo la raccolta.
 - b. Se occorre conservarli più a lungo, conservare i campioni a ≤ -20 °C per un massimo di 90 giorni dopo la raccolta.
2. Campioni di tampone raccolti nel kit di raccolta VTM
 - a. Trasportare e conservare il campione nella provetta VTM a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C fino a un massimo di 3 giorni dopo la raccolta.
 - b. Prima di effettuare l'analisi con il test Aptima HSV 1 & 2 Assay, i campioni raccolti in VTM devono essere trasferiti nella provetta di trasporto dal kit di trasporto dei campioni Aptima che contiene 2,9 ml di STM in conformità alle istruzioni indicate di seguito.
 - c. Preparazione dell'area di trasporto dei campioni
 - i. Indossare guanti puliti senza talco.
 - ii. Passare sulle superfici di lavoro e sui pipettatori una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% - 3,5% (0,35 M - 0,5 M).
 - iii. Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici di lavoro e i pipettatori per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua DI. Asciugare le superfici con salviette pulite.
 - iv. Coprire il banco con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
 - v. Nell'area di trasporto del campione, collocare una rastrelliera delle provette per test contenente un numero sufficiente di provette di trasporto del campione Aptima corrispondente al numero di campioni VTM da analizzare.
 - vi. Etichettare ciascuna provetta di trasporto del campione Aptima con il numero di accesso o l'ID campione.
 - d. Procedura di trasporto del campione
 - i. Per ridurre il rischio di contaminare altri campioni, lavorare con un campione VTM alla volta.
 - ii. Indossare dei guanti senza talco puliti e collocare i campioni da analizzare nell'area di trasporto specifica.
 - iii. Ottenere 1 campione VTM. Svitare il tappo della provetta di trasporto del campione Aptima corrispondente, collocandolo sul banco con le filettature rivolte verso l'alto.
 - iv. Miscelare con vortex i campioni VTM per 3 - 10 secondi. Svitare il tappo della provetta, collocandolo sul banco con le filettature rivolte verso l'alto.
 - v. Entro 1 minuto di miscelazione con vortex, pipettare 0,5 ml di campione VTM nella provetta di trasporto del campione Aptima dal kit di trasporto dei campioni Aptima che contiene 2,9 ml di STM.

- vi. Smaltire il puntale della pipetta in un contenitore di soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5%.
- vii. Riposizionare il tappo sulla provetta di trasporto del campione, serrando bene. Capovolgere con attenzione 2 o 3 volte la provetta per assicurare la completa miscelazione del campione.
- viii. Richiudere la provetta contenente il campione VTM restante per la conservazione a $\leq -70^{\circ}\text{C}$ se lo si desidera.
- ix. Ripetere i procedimenti da iii a viii indicati in precedenza per il trasporto dei campioni successivi. Cambiare spesso i guanti senza talco, soprattutto se vengono a contatto con i campioni biologici.
- e. Dopo il trasferimento in una provetta di trasporto del campione Aptima, i campioni possono essere trasportati e conservati a una temperatura compresa tra 2°C e 30°C per un massimo di 30 giorni.
- f. Se occorre conservarli più a lungo, congelare il campione VTM nella provetta di trasporto del campione Aptima a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ per un massimo di 90 giorni.

C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi

- 1. I campioni analizzati devono essere conservati su una rastrelliera, in posizione verticale.
- 2. Le provette del campione devono essere coperte con una nuova barriera pulita di pellicola di plastica o di alluminio, oppure un tappo.

Nota: qualsiasi condizione che comporti la perdita o l'evaporazione del terreno di coltura in fase di trasporto, manipolazione o conservazione può compromettere la possibilità di pipettare più aliquote.

- 3. Se i campioni dosati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi penetrabili e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili sulle provette di trasporto del campione. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate.
- 4. Prima di rimuovere i tappi di campioni precedentemente analizzati e su cui si sono posti nuovamente i tappi, occorre sottoporre a centrifuga le provette di trasporto dei campioni per 5 minuti a una forza centrifuga relativa (RCF) di 420 per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta. **Evitare schizzi e contaminazione crociata.**

Nota: i campioni biologici devono essere spediti conformemente alle normative nazionali, internazionali e regionali applicabili in materia di trasporto.

Panther System

Sono elencati di seguito i reagenti di Aptima HSV 1 & 2 Assay per il Panther System. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo identificativo.

Reagenti e materiali forniti

Kit Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

100 test (2 scatole del test e 1 kit dei controlli), N. di cat. PRD-03568

I controlli sono disponibili separatamente. Vedere sotto il numero di catalogo delle singole confezioni.

Confezione refrigerata del test Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (alla consegna, conservare a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
A	Reagente di amplificazione <i>Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata.</i>	1 fiala
E	Reagente enzimatico <i>Transcriptasi inversa e polimerasi dell'RNA essiccate in soluzione tamponata HEPES.</i>	1 fiala
PRO	Reagente promotore <i>Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata.</i>	1 fiala
IC	Controllo interno <i>Acidi nucleici non infettivi in soluzione tamponata.</i>	1 x 0,3 mL

Confezione a temperatura ambiente del test Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (alla ricezione, conservare a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
AR	Soluzione di ricostituzione e amplificazione <i>Soluzione acquosa contenente glicerolo e conservanti.</i>	1 x 7,2 mL
ER	Soluzione di ricostituzione enzimatica <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	Soluzione di ricostituzione promotore <i>Soluzione acquosa contenente glicerolo e conservanti.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	Reagente di cattura del target <i>Acidi nucleici in una soluzione salina tamponata contenente acidi nucleici non infettivi in fase solida.</i>	1 x 26,0 mL
	Collari di ricostituzione	3
	Foglio dei codici a barre dei lotti master	1 foglio

Kit dei controlli per il test Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (N. di cat. PRD-03569)
(alla consegna, conservare a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
CONTROLLO -	Controllo negativo <i>Soluzione tamponata.</i>	5 x 2,7 mL
CONTROLLO +	Controllo positivo <i>Acidi nucleici non infettivi in soluzione tamponata.</i>	5 x 1,7 mL
	Foglio dei codici a barre dei controlli	1 foglio

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: I materiali con numeri di catalogo elencati sono disponibili da Hologic, salvo altrimenti specificato.

Materiale	N. cat.
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Panther System Continuous Fluid and Waste (Panther Plus) per liquidi e scarti	PRD-06067
Kit sessione analitica Panther System per test in tempo reale (esclusivamente per test in tempo reale)	PRD-03455 (5000 test)
<i>Kit di liquidi per Aptima™ Assay (noto anche come kit dei liquidi universali) contiene soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima</i>	303014 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore di rifiuti Panther	504405
o kit sessione analitica Panther	303096 (5000 test)
<i>(quando si eseguono test TMA non in tempo reale parallelamente a test TMA in tempo reale)</i>	
<i>Contiene MTU, sacchetti per rifiuti, coperchi del contenitore per i rifiuti, Auto Detect e liquidi del test</i>	
Kit di liquidi per test Aptima Assay	303014 (1000 test)
<i>(contiene soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima)</i>	
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Puntali da 1000 µl con filtro, conduttivi, rilevatori di liquido e monouso	901121 (10612513 Tecan)
<i>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni geografiche. Contattare il rappresentante locale per informazioni specifiche della regione geografica</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Kit di trasporto dei campioni Aptima	301154C
<i>per l'uso con campioni raccolti in VTM</i>	
Kit di trasporto dei campioni Aptima (stampabile)	PRD-05110
<i>per l'uso con campioni raccolti in VTM</i>	

Kit di raccolta dei campioni biologici di tampone multitest Aptima	PRD-03546
Candeggina: soluzione di ipoclorito di sodio al 5,0% - 8,25% (0,7 M - 1,16 M)	—
Guanti monouso senza talco	—
Tappi penetrabili Aptima	105668
Tappi non penetrabili di ricambio	103036A
Tappi di ricambio per reagenti	—
<i>Soluzioni di ricostituzione reagente di amplificazione, enzimatico e promotore</i>	
<i>CL0041 (100 tappi)</i>	
<i>TCR</i>	<i>501604 (100 tappi)</i>
Teli da banco di laboratorio plastificati	—
Panni che non lasciano pelucchi	—
Pipettatore	—
Puntali	—
Miscelatore vortex	—
Centrifuga	—

Materiali opzionali**N. cat.**

Hologic additivo per la pulizia a base di candeggina <i>per la pulizia ordinaria di superfici e attrezzature</i>	302101
Agitatore oscillante per provette	—

Procedura di analisi del Panther System

Nota: per ulteriori informazioni procedurali sul Panther System, consultare il Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System.

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati i reagenti. Passare sulle superfici di lavoro e sui pipettatori una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% - 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua demineralizzata (DI). Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco con teli assorbenti da laboratorio puliti e con retro in plastica.
2. Pulire una superficie di lavoro separata su cui preparare i campioni. Utilizzare la procedura descritta in precedenza (procedimenti A.1).
3. Pulire le pipette. Utilizzare la procedura di pulizia descritta in precedenza (Fase A.1).

B. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

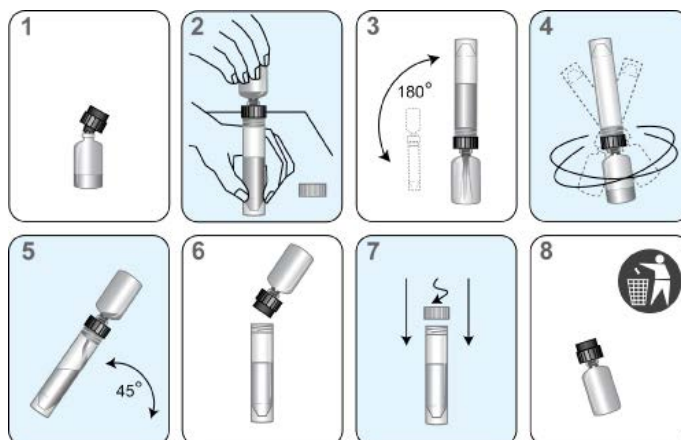
Nota: eseguire la ricostituzione dei reagenti prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Panther System.

1. Prima di eseguire l'analisi, i reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori devono essere ricostituiti combinando il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato con la soluzione di ricostituzione appropriata.
 - a. Lasciare che i reagenti liofilizzati raggiungano la temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C) prima dell'uso.

- b. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di fissare il collare di ricostituzione, assicurarsi che la soluzione di ricostituzione e il reagente presentino simboli delle etichette uguali.
- c. Controllare i numeri di lotto sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati. Etichettare i tappi dei flaconi della soluzione di ricostituzione.
- d. Aprire la fiala di vetro del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 1).
- e. Aprire il flacone di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
- f. Tenendo il flacone di soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone della soluzione di ricostituzione (Figura 1, Procedimento 2).
- g. Capovolgere lentamente i flaconi collegati. Lasciare scendere la soluzione dal flacone della soluzione di ricostituzione nella fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 3).
- h. Agitare roteando con attenzione la soluzione nel flacone per miscelarla. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 1, Procedimento 4).
- i. Attendere almeno 15 minuti che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere di nuovo i due flaconi assemblati, inclinandoli con un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, Procedimento 5). Lasciare che tutto il liquido ritorni nel flacone della soluzione di ricostituzione.
- j. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 6).
- k. Rimettere il tappo sul flacone di plastica con il tappo contenente l'etichetta corrispondente al reagente oppure con un nuovo tappo. Non utilizzate tappi diversi. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, Procedimento 7).
- l. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 8).

Opzionale: è consentita l'ulteriore miscelazione dei reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori mediante oscillante per provette. I reagenti possono essere miscelati posizionando il flacone di plastica richiuso su un agitatore per provette impostato a 20 giri/min (o equivalente) per un minimo di 5 minuti.

Avvertenza: evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma compromette il rilevamento del livello nel Panther System.

Avvertenza:**Figura 1. Processo di ricostituzione dei reagenti**

2. Preparazione del reagente di cattura del target di lavoro (Working Target Capture Reagent, wTCR)
 - a. Abbinare i flaconi di TCR e di controllo interno (IC).
 - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
 - c. Aprire il flacone di TCR e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Togliere il tappo dal flacone di controllo interno e versare l'intero contenuto nel flacone di TCR. È normale che nel flacone di controllo interno resti una piccola quantità di liquido.
 - e. Chiudere con il tappo il flacone e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo procedimento.
 - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
 - g. Eliminare il flacone e il tappo del controllo interno.
- C. Preparazione di reagenti per i reagenti precedentemente preparati
 1. I reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori precedentemente preparati devono essere portati a temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C) prima di iniziare il test.
Opzione: è consentita un'ulteriore miscelazione dei reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori mediante un agitatore oscillante per provette. I reagenti possono essere miscelati posizionando il flacone di plastica ricomposta su un agitatore oscillante per provette impostato su 20 RPM (o equivalente) per un minimo di 25 minuti.
 2. Se il wTCR contiene precipitato, riscaldarlo a temperature comprese tra 42 °C e 60 °C fino a 90 minuti. Prima di usare il wTCR, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente. Non usare se persiste il precipitato.
 3. Verificare che i reagenti non superino i relativi tempi di stabilità di conservazione, inclusa la stabilità sullo strumento.
 4. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul sistema. Evitare la formazione di schiuma durante il capovolgimento dei reagenti. Questo procedimento non è necessario se i reagenti vengono caricati sul sistema direttamente dopo la miscelazione sull'agitatore oscillante per provette.
 5. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi rabboccati.

Avvertenza: per ottenere risultati accurati del test, è necessaria una miscelazione adeguata dei reagenti.

D. Manipolazione dei campioni biologici

1. Controllare visivamente che tutte le provette dei campioni soddisfino almeno uno dei seguenti criteri:
 - a. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima rosa nella provetta di raccolta del campione di tampone multitest Aptima.
 - b. L'assenza di un tampone nella provetta di trasporto del campione Aptima per i campioni VTm.
2. Prima dell'analisi, lasciare che i controlli e i campioni raggiungano la temperatura ambiente.

Nota: prima di eseguire il test e/o per risolvere sospetti risultati non validi relativi al campione, è possibile agitare i campioni ad alta velocità per un minimo di 3 minuti, seguiti da un'agitazione a bassa velocità per 1 minuto (per far scendere il fluido nella provetta).

3. Ispezionare le provette dei campioni prima di caricarle sulla rastrelliera.
 - a. Se una provetta del campione contiene bolle nello spazio tra il liquido e il tappo, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per eliminare le bolle.
 - b. Se una provetta del campione presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato quando sono state seguite le istruzioni per la raccolta, centrifugare la provetta per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non sia presente liquido nel tappo.

Nota: la mancata osservanza dei Procedimenti 3a-4b può causare un versamento di liquido dal tappo della provetta del campione.

Nota: da ciascuna provetta del campione possono essere analizzate fino a 5 aliquote separate. I tentativi di pipettare più di 5 aliquote dalla provetta dei campioni possono causare errori di volume insufficiente.

E. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni fornite nel *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System* e in *Note procedurali*.

Nota: Accertarsi che vengano utilizzate rastrelliere per reagenti e adattatori per TCR di dimensioni appropriate.

2. Caricare i campioni.

Note procedurali

A. Controlli

1. Le provette del controllo positivo e del controllo negativo possono essere caricate in qualsiasi posizione della rastrelliera o in qualsiasi vano dello scomparto campioni sul Panther System. Il pipettaggio dei campioni biologici inizierà quando verrà soddisfatta 1 delle seguenti 2 condizioni:
 - a. I controlli sono in fase di trattamento sul sistema.
 - b. I risultati validi dei controlli sono stati registrati nel sistema.
2. Dopo che le provette dei controlli saranno state pipettate e sottoposte a trattamento per uno specifico kit di reagenti, i campioni del paziente possono essere analizzati con il kit associato entro un intervallo massimo di 24 ore **a meno che:**

- a. I risultati dei controlli siano non validi.
 - b. Il kit di reagenti del test associato sia rimosso dal sistema.
 - c. Il kit di reagenti del dosaggio associato abbia superato i limiti di stabilità.
3. Ciascuna provetta di controllo può essere analizzata una volta. I tentativi di pipettare più di una volta dalla provetta possono causare errori di volume insufficiente.
- B. Temperatura
- Per temperatura ambiente si intende un range di temperature comprese tra 15 °C e 30 °C.
- C. Talco dei guanti
- Come in qualsiasi sistema di reazione, il talco eccessivo in alcuni guanti può causare la contaminazione di provette aperte. Si consigliano guanti privi di talco.

Controllo della qualità

A. Criteri di validità del ciclo di analisi

Il software stabilisce automaticamente la validità del ciclo di analisi. Il software non convaliderà una sessione analitica se uno o entrambi i controlli (negativo e positivo) presentano risultati non validi.

Un ciclo di analisi può essere considerato non valido da un operatore se si osservano e si documentano durante il dosaggio difficoltà tecniche, dell'operatore o dello strumento.

Un ciclo di analisi non valido deve essere ripetuto.

B. Validità del controllo

Tabella 1 indica i criteri di validità TTime per i controlli negativo e positivo.

Tabella 1: Criteri di validità TTime

	TTime IC	TTime HSV-1	TTime HSV-2
Controllo negativo	$\geq 7,0$ e $\leq 40,0$	-	-
Controllo positivo	$\geq 7,0$ e $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ e $\leq 35,0$	$\geq 3,0$ e $\leq 35,0$

Nota: i campioni di controllo di qualità esterni (non forniti) devono essere analizzati in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore o ai requisiti di accreditamento e le procedure di controllo di qualità standard di ciascun laboratorio.

Nota: per assistenza con controlli al di fuori del range, contattare l'assistenza tecnica Hologic.

Nota: quando TTime non può essere calcolato, viene visualizzato un trattino (-).

Interpretazione del test

I risultati del test vengono determinati automaticamente dal software di dosaggio. I risultati per il rilevamento di HSV-1 e HSV-2 vengono riportati separatamente. Tabella 2 mostra i possibili risultati riportati in una sessione analitica valida e le interpretazioni dei risultati. Il primo risultato valido è quello che deve essere riportato. I campioni con risultati non validi devono essere sottoposti a un nuovo test. Se anche il risultato del secondo test risulta non valido, è necessario prelevare un nuovo campione.

Tabella 2: Interpretazione dei risultati

Risultato relativo a HSV-1	Risultato relativo a HSV-2	Interpretazione
HSV1 neg	HSV2 neg	Negativo: nessun mRNA rilevato per HSV-1 o HSV-2
HSV1 neg	HSV2 POS	HSV-2 positivo: mRNA rilevato per HSV-2
HSV1 POS	HSV2 neg	HSV-1 positivo: mRNA rilevato per HSV-1
HSV1 POS	HSV2 POS	HSV-1 e HSV-2 positivo: rilevato mRNA per HSV-1 e HSV-2
Non valido	Non valido	Non valido: si è verificato un errore nella generazione del risultato. Il campione biologico deve essere rianalizzato.

Tabella 3 mostra i criteri TTime per la determinazione del risultato per un determinato campione biologico. Un test può anche essere non valido a causa di altri parametri che si trovano al di fuori dei range previsti.

Tabella 3: Criteri TTime

	TTime IC	TTime HSV-1	TTime HSV-2
Negativo	$\geq 7,0$ e $\leq 45,0$	-	-
HSV1 positivo	- o $\geq 7,0$ e $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ e $\leq 53,0$	-
HSV2 negativo			
HSV1 negativo	- o $\geq 7,0$ e $\leq 53,0$	-	$\geq 3,0$ e $\leq 53,0$
HSV2 positivo			
HSV1 positivo	- o $\geq 7,0$ e $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ e $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ e $\leq 53,0$
HSV2 positivo			
Non valido	-	-	-

Nota: quando TTime non può essere calcolato, viene visualizzato un trattino (-).

Limiti

- A. L'uso di questo test va limitato al personale che è stato addestrato all'esecuzione della procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo può determinare risultati erranei.
- B. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione biologico.
- C. Il dispositivo non è realizzato per essere utilizzato con liquido cerebrospinale o per screening prenatale.
- D. I risultati ottenuti con il test Aptima HSV 1 & 2 Assay devono essere interpretati insieme agli altri dati clinici a disposizione del medico.
- E. Un risultato negativo di Aptima HSV 1 & 2 Assay non preclude una possibile infezione perché i risultati dipendono da un'appropriata raccolta dei campioni. I risultati del test possono essere influenzati da un prelievo improprio del campione, da un errore tecnico, dallo stadio clinico della lesione di cui si è estratto un campione o da livelli target al di sotto del limite di rilevamento del test.

Prestazione del test di analisi con Panther System

Terreno di trasporto virale (VTM)

La prestazione del test Aptima HSV 1 & 2 Assay è stata valutata con tipi di VTM comunemente utilizzati (terreno di trasporto virale universale BD/terreno di trasporto universale Copan, Remel M4RT, Remel M4 e Remel M5). Ciascun terreno di trasporto è stato corretto separatamente con particelle di ceppi virali MacIntyre HSV-1 o SM HSV-2 a ~3X il limite di rilevamento (LoD). Ciascun pannello è stato trasferito in conformità alle istruzioni nel foglietto illustrativo STM. Per valutare la potenziale interferenza di diversi tipi di VTM, i pannelli HSV-negativi (non corretti) sono stati diluiti anche in STM e analizzati a 40 (quaranta) replicati per pannello. Tutti i pannelli negativi sono risultati validi al 100% e negativi e tutti i pannelli corretti HSV-1 o HSV-2 sono risultati positivi al 100% per il tipo di HSV appropriato.

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica/LoD del test Aptima HSV 1 & 2 Assay è stata determinata analizzando una serie di pannelli contenenti virus di HSV-1 o HSV-2 diluito in campioni clinici negativi in pool in STM e VTM diluiti in matrici a base di STM. Per HSV-1, sono stati analizzati i ceppi virali MacIntyre e HF. Per HSV-2, sono stati analizzati i ceppi SM e G. Almeno 60 replicati sono stati analizzati su ciascuna concentrazione per ogni elemento del pannello per tutti i ceppi virali e le matrici su 3 lotti di reagente.

Un'analisi di regressione di probit è stata effettuata per fornire il limite di rilevamento al 95% previsto per ciascun ceppo HSV in ogni matrice di ciascun lotto. Il LoD è stato definito come la concentrazione a cui la positività $\geq 95\%$ di replicati analizzati viene ottenuta in base al calcolo massimo fra i 3 lotti di reagente.

Tabella 4: LoD HSV 1 & 2 in VTM e STM

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

Verifica LoD

Il LoD è stato verificato utilizzando 2 isolati clinici di HSV-1 e 2 isolati clinici di HSV-2 che erano stati isolati dai campioni clinici HSV-positivi e messi in coltura e quantificati in sede. Ciascun isolato è stato analizzato con il test Aptima HSV 1 & 2 Assay utilizzando 60 replicati ciascuno a LoD pari a 1X, 3X e 10X. L'analisi è stata completata nella matrice STM e VTM per tutti e 4 gli isolati clinici ed è stata eseguita utilizzando 3 lotti di reagenti. Tutti i replicati per tutti gli isolati clinici a tutte e 3 le concentrazioni analizzate sono stati rilevati dal test Aptima HSV 1 & 2 Assay, il quale ha dimostrato che il test è in grado di rilevare accuratamente un range di isolati sia HSV-1 sia HSV-2 al LoD determinato.

Co-infezione

I pannelli sono stati realizzati con particelle virali di HSV-1 a LoD 3X e virus HSV-2 a LoD 1000X, nonché con HSV-2 a LoD 3X e HSV-1 a LoD 1000X. I pannelli aggiuntivi sono stati creati con contenuto di HSV-2 a 100X la concentrazione di HSV-1 a LoD 3X. Tutte le analisi risultavano in un rilevamento del 100% sia per HSV-1 sia per HSV-2.

Reattività crociata

Per valutare la sensibilità analitica e la specificità del test Aptima HSV 1 & 2 Assay in presenza di microrganismi non target che potrebbero essere presenti nei campioni clinici, i pannelli di microrganismi non target sono stati realizzati in STM su una concentrazione di test di 1×10^5 unità/ml per i virus e 1×10^6 unità/ml per tutti gli altri organismi. Gli organismi sono stati analizzati in assenza di HSV o in presenza di HSV-1 o HSV-2 a LoD 3X. Su quarantasette (47) dei 48 microbi analizzati non sono stati rilevati effetti sulla prestazione del test a 1×10^6 unità/ml; *Streptococcus pneumoniae* ha mostrato un'interferenza a 1×10^5 unità/ml (Tabella 5).

Tabella 5: Specificità analitica

Microrganismo	Concentrazione
<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 copie RNA/ml ²
Adenovirus 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 copie 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 copie 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}
Virus di Epstein-Barr	1×10^5 copie DNA/ml ³
<i>Escherichia coli</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}

Tabella 5: Specificità analitica (continua)

Microrganismo	Concentrazione
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
Virus dell'epatite B	1x10 ⁵ IU/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 copie RNA/ml ²
<i>Mycoplasma orale</i>	1x10 ⁶ copie RNA/ml ²
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
Parvovirus B19	1x10 ⁵ TCID 50/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}
Varicella-zoster virus	1x10 ⁵ copie DNA/ml ³
Virus del Nilo occidentale	1x10 ⁵ TCID 50/ml ³

¹CFU = unità formanti colonie.²Ottenuto internamente da Hologic, Inc.³Ottenuto da ZeptoMetrix Corporation (Buffalo NY).⁴IU = unità internazionali.

Interferenza

Sostanze potenzialmente interferenti elencate nella Tabella 6 sono state analizzate nel test Aptima HSV 1 & 2 Assay a concentrazioni iniziali di 5% vol/vol (V/V), equivalenti a capacità di tampone 100% (SC); o a concentrazioni di 0,03% o 5% wt/vol (W/V); o ancora a 4 x 10⁵ cellule/ml per i leucociti. I pannelli sono stati realizzati in STM e valutati per gli effetti potenziali sia sulla sensibilità analitica sia sulla specificità. La prestazione relativa alla sensibilità è stata valutata separatamente per HSV-1 e HSV-2 correggendo le particelle virali nei pannelli contenenti la sostanza a LoD 3X. È stata valutata anche la specificità dei pannelli HSV-negativi contenenti ciascuna sostanza.

Non sono stati osservati effetti sulla prestazione del test in presenza di un marchio rappresentativo delle seguenti sostanze esogene al 5% di W/V o V/V (SC al 100%): lubrificanti vaginali, creme antimicotiche, saponi intimi, spray femminili, farmaci per herpes, burro di cacao, lozioni per il corpo, polveri per il corpo, soluzioni di lavaggio a base di acido acetico glaciale, creme per le emorroidi, calmanti per la tosse, dentifricio e collutorio. I gel spermicidi/contraccettivi non hanno provocato alcuna interferenza a una concentrazione di W/V al 4% o SC all'80%. Non sono state osservate interferenze in presenza di un marchio rappresentativo di farmaci antivirali a W/V al 5%. Non sono stati osservati effetti sulla prestazione del test nelle sostanze endogene seguenti analizzate a V/V o W/V al 5% (SC al 100%): urina, muco e liquido seminale. Non sono state osservate interferenze nelle seguenti sostanze endogene su tutte le concentrazioni finali indicate: leucociti (4×10^5 cellule/ml); saliva (W/V al 4%/SC all'80%); proteine (W/V al 4%/SC all'80%); sangue intero (V/V allo 0,5%/SC al 10%); feci (W/V allo 0,03%/SC allo 0,6%).

Tabella 6: Sostanze interferenti

Sostanza	Marchio/fonte	Concentrazione finale*
Lubrificante vaginale	KY Jelly	V/V 5%
Gel spermicida/contraccettivo	Options Gynol II	W/V 4%
Crema antimicotica	Monistat 3	W/V 5%
Sapone intimo	Up & Up Feminine Wash	V/V 5%
Spray femminile	FDS Feminine Deodorant Spray	W/V 5%
Farmaco per herpes	Releev	W/V 5%
Burro di cacao	Carmex	W/V 5%
Lozione per il corpo	Vaseline Aloe Fresh	W/V 5%
Talco	Summer's Eve Powder	W/V 5%
Soluzione di lavaggio a base di acido acetico glaciale	soluzione di lavaggio a base di acido acetico glaciale	V/V 5%
Crema per le emorroidi	Preparazione H	W/V 5%
Urina	Raccolta delle urine in sede	V/V 5%
Sangue intero	Raccolta di sangue intero in sede	V/V 0,5%
Leucociti	Biological Specialty Corporation Leukocytes	4×10^5 cellule/ml
Saliva	Raccolta della saliva in sede	W/V 4%
Muco	Sigma Aldrich Mucine	W/V 0,3%
Liquido seminale	Liquido seminale	V/V 5%
Feci	Feci	W/V 0,03%
Calmante per la tosse	Dayquil	V/V 5%
Dentifricio	Sensodyne	W/V 5%
Proteine	Casein	W/V 4%
Farmaco antivirale	Aciclovir	W/V 5%
Collutorio	Listerine	V/V 5%

*Le concentrazioni finali indicano la concentrazione finale (FC) nel campione se analizzato sullo strumento Panther. In termini di SC di raccolta, FC 5% = SC 100%; FC 4% = SC 80%; FC 0,5% = SC 10%; FC 0,03% = SC 0,6%.

Riproducibilità

La riproducibilità del test Aptima HSV 1 & 2 Assay è stata valutata presso 3 siti statunitensi esterni. L'analisi è stata eseguita utilizzando 3 lotti di reagenti del test e 6 operatori (2 per ciascun sito). Presso ogni sito, l'analisi è stata eseguita per almeno 6 giorni. Gli elementi del pannello sono stati creati correggendo le particelle virali di HSV-1 e/o HSV-2 in STM. Le concentrazioni finali di HSV-1 erano comprese tra 0 TCID₅₀/ml e 86,96 TCID₅₀/ml e le concentrazioni finali di HSV-2 erano comprese tra 0 TCID₅₀/ml e 1,63 TCID₅₀/ml.

La solidità del test Aptima HSV 1 & 2 Assay è stata determinata analizzando gli elementi del pannello HSV-negativi e gli elementi del pannello contenenti livelli bassi e moderati di HSV-1 e HSV-2. La concordanza con i risultati attesi era pari al 100% per HSV-1 e HSV-2 negli elementi del pannello positivo moderato e negativo e ≤ 100% negli elementi del pannello con concentrazioni vicine o inferiori al LoD del 95% del test in STM corretto con particelle virali.

Tabella 7 mostra la concordanza dei risultati del test Aptima HSV 1 & 2 Assay con i risultati attesi per tutti gli elementi del pannello.

Tabella 7: Concordanza dei risultati di Aptima HSV 1 & 2 Assay con i risultati attesi

Conc.		Conc. target (TCID ₅₀ /ml)		Risultato atteso		N	Concordanza (n)		Concordanza (%) (IC al 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)

IC = Intervallo di confidenza punteggio, Conc. = concentrazione, HNeg = alto negativo, LPos = basso positivo, MPos = moderato positivo, Neg = negativo, Pos = positivo.

Tabella 8 mostra la variabilità del segnale HSV-1 e HSV-2 in elementi del pannello bassi e moderati positivi tra siti, tra operatori, tra lotti, tra diversi giorni, tra diverse sessioni analitiche, durante sessioni analitiche e complessivamente negli elementi del pannello con risultati del test Aptima HSV 1 & 2 Assay positivi.

Tabella 8: Variabilità del segnale del test Aptima HSV 1 & 2 Assay in elementi del pannello bassi e moderati positivi

Virus	Conc.	N	Media TTime	Tra centri	Tra operatori	Tra Lotti	Tra giorni diversi	Tra sessione analitica	Nella stessa sessione analitica	Totale
				DS	DS	DS	DS	DS	DS	DS
				(%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. = concentrazione, CV = coefficiente di variazione, LPos = basso positivo, MPos = moderato positivo, DS= deviazione standard.

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa. Ciò può verificarsi se la variabilità dovuta a tali fattori è piuttosto ridotta. In tali casi, i valori DS e CV sono uguali a 0.

Prestazioni dell'HSV-2 in una matrice clinica orale artificiale

Il test Aptima HSV 1 & 2 Assay è stato condotto utilizzando una matrice di campione biologico artificiale per fornire dati aggiuntivi sulla prestazione per il rilevamento di HSV-2 in campioni orali. Le particelle virali del ceppo SM HSV-2 sono state corrette nelle matrici cliniche orali VTM o STM HSV-negative con LoD 3X o LoD 1000X rispettivamente per ciascun terreno di coltura. Quindici replicati di campioni HSV-negativi, venticinque replicati di HSV-2 a LoD 3X e venticinque replicati di HSV-2 a LoD 1000X per le matrici VTM e STM sono stati analizzati da operatori in cieco relativamente al contenuto del pannello. I risultati mostravano un rilevamento del 100% di pannelli artificiali orali positivi contenenti HSV-2 e un rilevamento pari a 0% in tutti i campioni negativi nelle matrici cliniche STM e VTM.

Prestazione del test clinico Panther System

Prestazione clinica

È stato condotto uno studio clinico multicentrico, prospettico, per stabilire le caratteristiche prestazionali del test Aptima HSV 1 & 2 Assay. Sono stati arruolati soggetti di sesso maschile e femminile (n = 839) con lesioni cutanee attive nelle regioni anogenitali¹ o orali² da 19 sedi cliniche statunitensi, tra cui sedi specializzate in pianificazione familiare, dermatologia, malattie pediatriche/dell'adolescenza, infezioni sessualmente trasmesse, laboratori privati e cliniche sanitarie pubbliche, ospedali, università e ricerca clinica. Sono stati raccolti due (2) campioni di tampone da una singola lesione di ciascun soggetto: uno è stato prelevato con un tampone di un kit di raccolta VTM disponibile in commercio e l'altro con un tampone del Kit di raccolta dei campioni biologici di tampone multitest Aptima. I campioni sono stati elaborati in conformità alle istruzioni del foglietto illustrativo appropriato e testati con la coltura virale del sistema ELVIS HSV ID and D³ Typing Test (Test di tipizzazione) e una procedura di sequenziamento/PCR bidirezionale convalidata per stabilire un'interpretazione del metodo di riferimento composito per HSV-1 e HSV-2. L'interpretazione del metodo di riferimento composito è stata considerata: A) positiva se la coltura virale del sistema ELVIS HSV ID e D³ Typing Test o il sequenziamento/PCR ha ottenuto un risultato positivo per il tipo di HSV (HSV-1 o HSV-2) e B) negativa se il sequenziamento/PCR ha ottenuto un risultato negativo per un tipo di HSV, mentre la coltura virale del sistema ELVIS HSV ID e D³ Typing Test ha ottenuto un risultato negativo (o un risultato positivo per l'altro tipo HSV³). I campioni sono stati analizzati con un test approvato dalla FDA per HSV-1 e HSV-2 per chiarire il tipo di HSV quando: A) il sequenziamento/PCR ha rilevato sia HSV-1 sia HSV-2 e B) i risultati combinati dei test del metodo di riferimento composito sono risultati positivi per entrambi i tipi di HSV.

La prestazione clinica del test Aptima HSV 1 & 2 Assay per il rilevamento di HSV-1 e HSV-2 è stata valutata in campioni biologici/campioni prelevati da lesioni nelle regioni anogenitali e orali. L'analisi con Aptima HSV 1 & 2 Assay è stata eseguita presso 3 laboratori esterni. Sono state generate 108 sessioni analitiche con Aptima HSV 1 & 2 Assay; 107 (99,1%) sessioni analitiche sono risultate valide, mentre 1 (0,9%) è risultata non valida a causa di un errore di hardware. Sono stati elaborati 1.629 campioni le durante sessioni analitiche con Aptima HSV 1 & 2 Assay valide; 1.628 (99,9%) di queste ultime hanno ottenuto risultati finali validi, mentre 1 (0,1%) ha ottenuto un risultato finale non valido a causa di un errore di hardware (questo campione non è stato rianalizzato perché il volume non era sufficiente). Sono stati rilevati risultati iniziali non validi in 7 campioni (0,4%); di questi, 6 sono stati rianalizzati e sono stati ottenuti risultati validi.

In totale, 790 soggetti (285 di sesso maschile e 505 di sesso femminile) erano valutabili per inclusione nelle analisi prestazionali; 544 presentavano lesioni nella regione anogenitale e 246 nella regione orale.

Complessivamente, per il rilevamento di HSV-1 e HSV-2 in campioni biologici/campioni raccolti da lesioni nella regione anogenitale, la sensibilità variava dal 93,4% al 98,4%, mentre i valori della specificità oscillavano tra il 92,8% e il 99,8% (Tabella 9 e Tabella 10).

1 Include addome, ano, natiche, cervice, prepuzio, glande/balano, inguine, monte di Venere, pene (fusto), area perianale, perineo, retto, scroto, coscia, uretra/orifizio uretrale, vagina, area vulvare e altro.

2 Include gengive, labbra, bocca, lingua e altro.

3 Il sistema ELVIS HSV ID and D³ Typing Test non può rilevare campioni co-infettati. Solo i campioni HSV-2 negativi possono essere tipizzati per HSV-1.

Tabella 9 mostra la sensibilità, la specificità, il valore predittivo positivo (VPP) e il valore predittivo negativo (VPN) del test Aptima HSV 1 & 2 Assay per il rilevamento di HSV-1 e la prevalenza di HSV-1 (in base al metodo di riferimento composito) nelle lesioni anogenitali per ciascun tipo di campione.

Tabella 9: Prestazione clinica del test Aptima HSV 1 & 2 Assay per il rilevamento di HSV-1 nelle lesioni anogenitali mediante tipi di campione

Tipo di campione biologico	Posizione della lesione	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	% Sensibilità (IC al 95%) ³	% Specificità (IC al 95%) ³	% VPP (IC al 95%) ⁴	% NPV (IC al 95%) ⁴
VTM	Anogenitale	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)
	Anogenitale uomo	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)
	Anogenitale donna	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)
STM tampone Aptima	Anogenitale	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)
	Anogenitale uomo	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)
	Anogenitale donna	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)

STM tampone Aptima = campione di tampone Aptima Multitest, Prev = prevalenza, VTM = campione VTM.

¹Due campioni hanno ottenuto risultati di coltura negativi, mentre 1 ha ottenuto un risultato di coltura positivo per HSV non tipizzabile.

²Un campione ha ottenuto un risultato di coltura negativo, mentre 1 ha ottenuto un risultato di coltura positivo per HSV non tipizzabile.

³Punteggio IC.

⁴IC 95% VPP (valore predittivo positivo) calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità positivo, IC 95% VPN calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità negativo.

Tabella 10 mostra la sensibilità, la specificità, il VPP e il VPN del test Aptima HSV 1 & 2 Assay per il rilevamento di HSV-2 e la prevalenza di HSV-2 (in base al metodo di riferimento composito) nelle lesioni anogenitali per ciascun tipo di campione.

Tabella 10: Prestazione clinica del test Aptima HSV 1 & 2 Assay per il rilevamento di HSV-2 nelle lesioni anogenitali mediante tipi di campione

Tipo di campione biologico	Posizione della lesione	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	% Sensibilità (IC al 95%) ³	% Specificità (IC al 95%) ³	% VPP (IC al 95%) ⁴	% NPV (IC al 95%) ⁴
VTM	Anogenitale	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)
	Anogenitale uomo	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)
	Anogenitale donna	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)
STM tampone Aptima	Anogenitale	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)
	Anogenitale uomo	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)
	Anogenitale donna	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)

STM tampone Aptima = campione di tampone Aptima Multitest, Prev = prevalenza, VTM = campione VTM.

¹Tutti gli 8 campioni hanno ottenuto risultati di coltura negativi.

²Tutti i 4 campioni hanno ottenuto risultati di coltura negativi.

³Punteggio IC.

⁴IC 95% VPP (valore predittivo positivo) calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità positivo, IC 95% VPN calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità negativo.

Tabella 11 mostra la sensibilità, la specificità, il VPP e il VPN del test Aptima HSV 1 & 2 Assay per il rilevamento di HSV-1 e la prevalenza di HSV-1 (in base al metodo di riferimento composito) nelle lesioni orali per ciascun tipo di campione. La sensibilità per il rilevamento di HSV-1 in campioni biologici/campioni raccolti nella regione orale era pari al 97,5% nei campioni di tampone Aptima Multitest e al 81,5% nei campioni VTM. Dei 22 campioni VTM con i risultati falsi negativi per HSV-1, 19 campioni hanno ottenuto risultati di coltura negativi. La specificità per il rilevamento di HSV-1 era pari all'88,7% nei campioni di tampone Aptima Multitest e al 99,2% nei campioni VTM. Nove (9) dei 14 campioni di tampone Aptima Multitest con risultati falsi positivi provenivano da 2 dei 17 siti di prelievo che hanno raccolto campioni dalla regione orale.

Tabella 11: Prestazione clinica del test Aptima HSV 1 & 2 Assay per il rilevamento di HSV-1 nelle lesioni orali mediante tipi di campione

Tipo di campione biologico	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	% Sensibilità (IC al 95%) ³	% Specificità (IC al 95%) ³	% VPP (IC al 95%) ⁴	% NPV (IC al 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)
STM tampone Aptima	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)

STM tampone Aptima = campione di tampone Aptima Multitest, Prev = prevalenza, VTM = campione VTM.

¹Diciannove campioni hanno ottenuto risultati di coltura negativi, mentre 1 ha ottenuto un risultato di coltura positivo per HSV non tipizzabile.

²Tutti i 3 i campioni hanno ottenuto risultati di coltura negativi.

³Punteggio IC.

⁴IC 95% VPP (valore predittivo positivo) calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità positivo, IC 95% VPN calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità negativo.

Poiché la maggior parte delle infezioni orali da HSV è causata da HSV-1, la prevalenza di infezioni da HSV-2 osservate nella regione orale era molto bassa (compresa tra 0,9% e 1,3%) (Tabella 12). Di 235 campioni VTM e 237 campioni biologici di tampone Aptima Multitest, solo 2 campioni VTM e 3 campioni biologici di tampone Aptima Multitest hanno ottenuto risultati positivi basati sull'analisi di riferimento. La sensibilità per il rilevamento di HSV-2 in campioni biologici/campioni raccolti nella regione orale era pari al 66,7% nei campioni di tampone Aptima Multitest e al 100% nei campioni VTM. L'unico campione di tampone Aptima Multitest raccolto da una lesione orale con un risultato falso negativo ha ottenuto un risultato di coltura negativo. Come descritto in precedenza, la sensibilità analitica per il rilevamento di HSV-2 mediante campioni orali artificiali era pari al 100%. La specificità per il rilevamento di HSV-2 era pari al 100% nei campioni di tampone Aptima Multitest e al 100% nei campioni VTM.

Tabella 12 mostra la sensibilità, la specificità, il VPP e il VPN del test Aptima HSV 1 & 2 Assay per il rilevamento di HSV-2 e la prevalenza di HSV-2 (in base al metodo di riferimento composito) nelle lesioni orali per ciascun tipo di campione.

Tabella 12: Prestazione clinica del test Aptima HSV 1 & 2 Assay per il rilevamento di HSV-2 nelle lesioni orali mediante tipi di campione

Tipo di campione biologico	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	% Sensibilità (IC al 95%) ²	% Specificità (IC al 95%) ²	% VPP (IC al 95%) ³	% NPV (IC al 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)
STM tampone Aptima	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)

STM tampone Aptima = campione di tampone Aptima Multitest, Prev = prevalenza, VTM = campione VTM.

¹Questo campione ha ottenuto un risultato di coltura negativo.

²Punteggio IC.

³IC 95% VPP (valore predittivo positivo) calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità positivo, IC 95% VPN calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità negativo.

Range di riferimento e valori attesi

Prevalenza

La prevalenza di HSV-1 e HSV-2 in popolazioni differenti dipende dai fattori di rischio del paziente quali età, stile di vita e la sensibilità del test nel rilevamento dell'infezione. Una sintesi della prevalenza di HSV-1 e HSV-2, tramite tipo di campione e gruppo di età, come determinato dal test Aptima HSV 1 & 2 Assay nello studio della prestazione clinica, è illustrato nella Tabella 13.

Tabella 13: Positività del test Aptima HSV 1 & 2 Assay tramite categoria della posizione della lesione e gruppo di età¹

Posizione della lesione Gruppo di età	% prevalenza (N. positivi/N. analizzati)			
	Campione VTM		Campione di tampone Aptima Multitest	
	HSV-1 positivo	HSV-2 positivo	HSV-1 positivo	HSV-2 positivo
Tutte le posizioni della lesione				
Tutte le età	21,9 (170/778)	33,0 (257/778)	26,0 (203/782)	35,3 (276/782)
< 2 anni	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)
Da 2 a 11 anni	30,8 (4/13)	0,0 (0/13)	50,0 (7/14)	0,0 (0/14)
Da 12 a 21 anni	21,5 (23/107)	40,2 (43/107)	24,8 (27/109)	42,2 (46/109)
Da 22 a 30 anni	18,9 (63/334)	36,8 (123/334)	21,4 (72/337)	39,5 (133/337)
Da 31 a 40 anni	20,7 (30/145)	33,8 (49/145)	27,3 (39/143)	35,7 (51/143)
Da 41 a 50 anni	22,7 (17/75)	26,7 (20/75)	25,7 (19/74)	28,4 (21/74)
Da 51 a 60 anni	30,9 (21/68)	22,1 (15/68)	37,7 (26/69)	24,6 (17/69)
> 60 anni	32,3 (10/31)	22,6 (7/31)	35,5 (11/31)	25,8 (8/31)
Lesioni anogenitali				
Tutte le età	13,4 (72/537)	47,5 (255/537)	13,5 (73/539)	50,8 (274/539)
< 2 anni	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
Da 2 a 11 anni	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
Da 12 a 21 anni	20,7 (17/82)	52,4 (43/82)	20,2 (17/84)	54,8 (46/84)
Da 22 a 30 anni	14,2 (38/268)	45,5 (122/268)	14,4 (39/270)	48,9 (132/270)
Da 31 a 40 anni	11,5 (12/104)	47,1 (49/104)	12,6 (13/103)	49,5 (51/103)
Da 41 a 50 anni	9,1 (4/44)	45,5 (20/44)	4,8 (2/42)	50,0 (21/42)
Da 51 a 60 anni	3,7 (1/27)	51,9 (14/27)	7,1 (2/28)	57,1 (16/28)
> 60 anni	0,0 (0/10)	70,0 (7/10)	0,0 (0/10)	80,0 (8/10)
Lesioni orali				
Tutte le età	40,7 (98/241)	0,8 (2/241)	53,5 (130/243)	0,8 (2/243)
< 2 anni	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)
Da 2 a 11 anni	33,3 (4/12)	0,0 (0/12)	53,8 (7/13)	0,0 (0/13)
Da 12 a 21 anni	24,0 (6/25)	0,0 (0/25)	40,0 (10/25)	0,0 (0/25)
Da 22 a 30 anni	37,9 (25/66)	1,5 (1/66)	49,3 (33/67)	1,5 (1/67)
Da 31 a 40 anni	43,9 (18/41)	0,0 (0/41)	65,0 (26/40)	0,0 (0/40)
Da 41 a 50 anni	41,9 (13/31)	0,0 (0/31)	53,1 (17/32)	0,0 (0/32)
Da 51 a 60 anni	48,8 (20/41)	2,4 (1/41)	58,5 (24/41)	2,4 (1/41)
> 60 anni	47,6 (10/21)	0,0 (0/21)	52,4 (11/21)	0,0 (0/21)

¹Nessun soggetto ha ottenuto risultati positivi con il test Aptima HSV 1 & 2 Assay per HSV-1 e HSV-2.

Valori di predizione positiva e negativa per tassi di prevalenza ipotetici

I valori predittivi positivi e negativi stimati (VPP e VNP) del test Aptima HSV 1 & 2 Assay per il rilevamento di HSV-1 e HSV-2 in differenti tassi di prevalenza ipotetici sono illustrati per ciascun tipo di campione nella Tabella 14. Questi calcoli sono basati sulla sensibilità e sulla specificità complessiva stimata per ciascun tipo di campione, come determinato nello studio sulla prestazione clinica.

Tabella 14: VPP e VNP ipotetici per il rilevamento di HSV-1 e HSV-2 tramite tipo di campione e categoria della posizione della lesione

Tipo di campione biologico	Posizione della lesione	Prevalenza (%)	HSV-1		HSV-2	
			VPP (%)	VPN (%)	VPP (%)	VPN (%)
Campione VTM	Anogenitale	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
	Orale	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
STM tampone Aptima	Anogenitale	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
	Orale	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

STM tampone Aptima = campione di tampone Aptima Multitest, VTM = campione VTM.

Distribuzione TTime per i controlli positivi del test Aptima HSV 1 & 2 Assay

La distribuzione dei valori TTime per il controllo positivo del test Aptima HSV 1 & 2 Assay da tutte le sessioni analitiche con Aptima HSV 1 & 2 Assay valide eseguite durante lo studio della prestazione clinica è presentata nella Tabella 15.

Tabella 15: Distribuzione di TTime per i controlli positivi del test Aptima HSV 1 & 2 Assay

Controlli positivi

Statistiche	TTime	
	HSV-1	HSV-2
N	107	107
Media	20,03	22,01
Mediana	19,8	21,7
DS	1,198	1,612
CV (%)	6,0	7,3
Minimo	18,1	19,5
Massimo	22,9	26,2

CV = coefficiente di variazione, DS = deviazione standard.

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.

Recapiti e Cronologia delle revisioni



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



Indirizzo sponsor australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'assistenza tecnica e del servizio clienti specifici del Paese, visitare il sito web www.hologic.com/support.

Eventuali incidenti gravi che si verificano in relazione al dispositivo, nell'area dell'Unione Europea, devono essere comunicati al fabbricante e alle autorità competenti dello Stato Membro di residenza dell'utente e/o del paziente.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e i relativi loghi sono marchi commerciali o marchi registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli U.S.A. e/o in altri Paesi.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti USA identificati nel sito www.hologic.com/patents.

©2016-2026 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-23071-701 Rev. 002

2026-03

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-23071-701 Rev. 001	Ottobre 2022	- Le Istruzioni per l'uso di APTIMA HSV 1 & 2 Assay AW-23071 Rev. 001 sostituiscono AW-15346 Rev. 005. Per la conformità normativa (dentro e/o fuori dal territorio degli U.S.A.) con il Regolamento sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVDR) i dati sono più consistenti ed è stato redatto un nuovo PI (identificativo prodotto) - Aggiunta sezione dedicata alla Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione - Aggiornata sezione Avvertenze e precauzioni - Aggiornata sezione Materiali richiesti ma disponibili separatamente - Aggiornata sezione del Panther System nella Procedura di test del Panther System - Rimosse le tabelle dalla 13 alla 18 e rinumerazione applicata di conseguenza - Aggiornate informazioni di contatto, tra cui: informazioni relative al rappresentante presso la Comunità europea, al marchio CE, al rappresentante australiano e all'assistenza tecnica - Aggiornamenti vari di stile e formattazione

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-23071-701 Rev. 002	Marzo 2022	• Aggiornata la tabella dei pericoli UE con le indicazioni di pericolo più recenti. • Aggiunte due avvertenze alla sezione Avvertenze e precauzioni. Una riguarda le buone pratiche di laboratorio di biologia molecolare e il monitoraggio ambientale, l'altra il rifiuto delle provette di trasporto che non contengono tamponi. • Aggiornate le istruzioni per la conservazione dei campioni dopo l'analisi, compresa l'opzione di coprire con un tappo la provetta di trasporto. Aggiunta anche una nota relativa alle condizioni che possono influire sulla possibilità di pipettare più aliquote. • Aggiornata la tabella "Materiali necessari ma disponibili separatamente". • Aggiornate le istruzioni nella sezione "Ricostituzione dei reagenti / Preparazione di un nuovo kit". • Aggiornate le istruzioni per la manipolazione dei campioni, aumentando a 5 il numero di aliquote separate da una provetta e consentendo l'agitazione con vortex in determinate situazioni. • Aggiornate per chiarezza le istruzioni per la preparazione del sistema. • Nella sezione Interpretazione dei risultati, è stato aggiunta la dicitura che rende necessario raccogliere un nuovo campione se i risultati del test del campione risultano non validi per la seconda volta. • Per chiarezza, il titolo della sezione "HSV-2 in matrice orale artificiale" è stato aggiornato a "Prestazioni dell'HSV-2 in una matrice clinica orale artificiale". • Aggiornamenti vari di stile, marchio e formattazione.