

Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

Návod na použitie
Na diagnostické použitie *in vitro*
Len na export z USA

Všeobecné informácie	2
Určené použitie	2
Zhrnutie a vysvetlenie testu	2
Princípy postupu	3
Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu	3
Varovania a bezpečnostné opatrenia	4
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiami	6
Odber preparátov a skladovanie	6
Systém Panther	9
Poskytnuté reagensie a materiály	9
Potrebné materiály, ale dostupné samostatne	10
Postup testovania systému Panther	11
Poznámky k postupu	14
Kontrola kvality	15
Interpretácia testu	16
Obmedzenia	17
Analytický výkon rozboru v systéme Panther	18
Vírusové transportné médium (VTM)	18
Analytická citlivosť	18
Overenie LoD	18
Koinfekcia	19
Křížová reaktivita	19
Interferencia	20
Reprodukovateľnosť	22
Výkonnosť HSV-2 v umelo pripravenej orálnej klinickej matrici	23
Klinický výkon rozboru v systéme Panther	24
Klinický výkon	24
Referenčný rozsah a očakávané hodnoty	27
Literatúra	31
Kontaktné údaje a história revízií	32

Všeobecné informácie

Určené použitie

Rozbor Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (rozbor Aptima HSV 1 & 2) je *in vitro* test amplifikácie nukleovej kyseliny v reálnom čase (NAAT) na kvalitatívnu detekciu a rozlíšenie messengerovej RNA (mRNA) vírusu herpes simplex (HSV) typu 1 (HSV-1) a typu 2 (HSV-2) na systéme Panther™.

Rozbor je možné použiť na testovanie vzoriek z výterov odobraných lekárom pochádzajúcich z kožných lézií v anogenitálnej alebo orálnej oblasti, ktoré boli umiestnené do transportného média pre vírusy (VTM) alebo transportného média pre vzorky Aptima (STM). Rozbor sa bude používať na pomoc pri diagnostike infekcií HSV-1 a/alebo HSV-2 u symptomatických pacientov a pacientiek.

Pomôcka nie je určená na použitie s mozgovomiechovým mokom ani na prenatálny skrining.

Zhrnutie a vysvetlenie testu

Herpes simplex vírusy typu 1 a 2 (HSV-1 a HSV-2) sú dvojlákové DNA vírusy patriace do podčľade herpesvírusov alfa. Hoci sú HSV-1 a HSV-2 úzko príbuzné, odlišujú sa geneticky a sérologicky (1). V Spojených štátoch bola v rokoch 2005 až 2010 séroprevencia HSV-1 53,9 % a séroprevencia HSV-2 15,7 % (2).

HSV-1 a HSV-2 zvyčajne infikujú odretú kožu alebo sliznicu ústnej dutiny či genitálií a spôsobujú bolestivé lézie. Po počiatočnej symptomatickej fáze vírusy vytvárajú latentné infekcie v senzorických nervových gangliách, čo spôsobuje nevyhnutné celoživotné infekcie u ľudí. Mnohé udalosti, ako napríklad fyzický alebo emocionálny stres, horúčka, ultrafialové žiarenie a poškodenie tkaniva, môžu spôsobiť reaktiváciu vírusu, ktorá vedie k opakovaným léziám alebo asymptomatickému vylučovaniu (1,3).

Hoci HSV-1 aj HSV-2 môžu infikovať sliznicu ústnej dutiny a genitálií, HSV-1 predstavuje väčšinu iných ako genitálnych infekcií. Genitálna infekcia HSV je jednou z najrozšírenejších sexuálne prenosných infekcií v Spojených štátoch. Zatiaľ čo HSV-2 je stále najčastejšou príčinou genitálneho herpesu, nedávne štúdie naznačujú zvýšený výskyt genitálneho herpesu vyvolaného HSV-1 (4). Genitálne infekcie HSV môžu uľahčiť získanie a prenos HIV (5). Okrem toho, tehotné ženy s primárnou infekciou HSV genitálií v neskoršom štádiu majú 50 % pravdepodobnosť prenosu vírusu na plod a sú vystavené vyššiemu riziku spontánneho potratu a predčasného pôrodu (6).

Vysoké percento asymptomatických infekcií HSV pacient ani lekár nerozpoznajú (7). Presná diagnostika infekcií HSV zlepšuje poradenstvo, vedie k účinnej liečbe a znižuje prenos (4).

V minulosti sa HSV infekcie diagnostikovali pomocou vírusovej kultivácie a následnej typizácie HSV pomocou imunofluorescencie, čo sú časovo a pracovne náročné postupy. Testy amplifikácie nukleových kyselín (NAAT) sa ukázali byť citlivejšie ako kultivačné metódy a poskytujú oveľa kratší čas na dosiahnutie výsledku (4).

Rozbor Aptima HSV 1 & 2 je NAAT vyvinutý na použitie v automatizovanom systéme Panther, ktorý využíva zachytenie cieľa, TMA a detekciu HSV-1, HSV-2 v reálnom čase a internú kontrolu (IC). Rozbor Aptima HSV 1 & 2 amplifikuje a deteguje mRNA pre HSV-1 a HSV-2 (8). Tieto RNA sú exprimované z vírusového genómu počas infekčného cyklu a sú zabalené vo vírusových časticiach HSV-1 a HSV-2 pred uvoľnením vírusu z infikovaných buniek (9). Rozbor Aptima HSV 1 & 2 preto deteguje bunky infikované vírusom a samotné zrelé vírusové častice.

Princípy postupu

Rozbor Aptima HSV 1 & 2 pozostáva z troch hlavných krokov, ktoré všetky prebiehajú v jednej skúmavke v systéme Panther: záchyt cieľa, amplifikácia cieľa pomocou TMA a detekcia produktov amplifikácie (amplikónov) fluorescenčne značenými sondami (torches). Rozbor zahŕňa IC v každom teste na monitorovanie cieleného zachytenia, amplifikácie a detekcie nukleovej kyseliny.

Preparáty sa zozbierajú alebo prenesú do skúmavky obsahujúcej STM, ktoré lyzuje bunky, uvoľňuje mRNA a chráni ju pred degradáciou počas skladovania. Keď sa vykoná rozbor Aptima HSV 1 & 2, cieľová mRNA sa izoluje z preparátu pomocou zachytávacích oligomérov, ktoré sú spojené s magnetickými mikročasticami. Zachytávacie oligoméry obsahujú sekvencie komplementárne so špecifickými oblasťami cieľových molekúl HSV mRNA, ako aj reťazec zvyškov deoxyadenozínu. Počas kroku hybridizácie sa sekvencie špecifické pre sekvencie zachytávacích oligomérov viažu na špecifické oblasti cieľovej molekuly mRNA HSV. Zachytávací oligomér: komplex sa potom zachytí z roztoku znížením teploty reakcie na teplotu miestnosti. Táto redukcia teploty umožňuje hybridizáciu medzi deoxyadenozínovou oblasťou na zachytávacom oligoméri a polydeoxytymidínovými molekulami, ktoré sú kovalentne pripojené k magnetickým časticiam. Mikročastice, vrátane zachytených cieľových molekúl HSV mRNA, ktoré sú na ne naviazané, sú ťahané na stranu reakčnej skúmavky pomocou magnetov a supernatant je odsatý. Častice sa premyjú, aby sa odstránila zvyšková matrica vzorky, ktorá môže obsahovať inhibítory amplifikácie.

Po dokončení cieleného zachytenia sa HSV mRNA amplifikuje použitím TMA, čo je spôsob amplifikácie nukleovej kyseliny založený na transkripcii, ktorý využíva dva enzýmy, MMLV reverznú transkriptázu a T7 RNA polymerázu. Reverzná transkriptáza sa používa na vytvorenie kópie DNA cieľovej mRNA sekvencie obsahujúcej promótorovú sekvenciu pre T7 RNA polymerázu. T7 RNA polymeráza produkuje viac kópií RNA amplikónu z templátu DNA kópie.

Detekcia je dosiahnutá pomocou horákov z jednovláknovej nukleovej kyseliny, ktoré sú prítomné v priebehu amplifikácie cieľa a hybridizujú špecificky na amplikón v reálnom čase. Každý horák má fluorofór a zhášadlo. Zhášač potláča fluorescenciu fluorofóru, pretože je navrhnutý tak, aby bol v tesnej blízkosti, keď nie je hybridizovaný s amplikónom. Keď sa horák naviaže na amplikón, zhášadlo sa presunie do väčšej vzdialenosti od fluorofóru a bude po excitácii svetelným zdrojom vydávať signál o špecifickej vlnovej dĺžke. Keď je prítomný väčší počet amplikónov, hybridizuje viac horákov. Nárast fluorescenčného signálu z progresívnej amplifikácie je detegovaný fluorometrami v systéme Panther. Systém Panther dokáže detegovať a rozlišovať medzi tromi fluorescenčnými signálmi zodpovedajúcimi amplifikačným produktom HSV-1, HSV-2 a IC. Fluorescencia (meraná v relatívnych fluorescenčných jednotkách [RFU]) sa monitoruje v priebehu času, aby sa vytvorila krivka vzniku fluorescencie v reálnom čase pre každé reportérové farbivo. Systémový softvér Panther porovnáva krivky vzniku fluorescencie s pevnými medznými časmi, aby sa zaznamenali výsledky (TČas) pre HSV-1, HSV-2 a IC.

Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu

Súhrn údajov o bezpečnosti a účinnosti (Summary of Safety and Performance, SSP) je dostupný v Európskej databáze zdravotníckych pomôcok (Eudamed), kde je prepojený s identifikátormi pomôcky (Základné UDI-DI). Dokument SSP pre rozbor Aptima Herpes Simplex Viruses 1&2 nájdete podľa základného jedinečného identifikátora pomôcky (BUDI): **54200455DIAGAPTHSV12S7**.

Varovania a bezpečnostné opatrenia

- A. Na diagnostické použitie *in vitro*.
- B. Na profesionálne použitie.
- C. Pred vykonaním tohto rozboru si pozorne prečítajte celý príbalový leták a *prevádzkovú príručku systému Panther/Panther Fusion™*, aby ste znížili riziko neplatných výsledkov.

Súvisiace s laboratóriom

- D. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.
- E. Použite rutinné laboratórne opatrenia. Nepipetujte ústami. Vo vyhradených pracovných priestoroch nejedzte, nepite ani nefajčite. Pri manipulácii s preparátmi a súpravami reagencií používajte jednorazové, bezpráškové rukavice, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii so vzorkami a súpravami reagencií si dôkladne umyte ruky.
- F. Pracovné plochy, pipety a iné zariadenia sa musia pravidelne dekontaminovať 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného.
- G. Všetky materiály, ktoré prišli do kontaktu s preparátmi a reagensmi, zlikvidujte podľa miestnych, štátnych a federálnych predpisov (10,11,12,13). Dôkladne vyčistite a vydezinfikujte všetky pracovné povrchy.
- H. Dodržiavajte osvedčené postupy pre molekulárne laboratória vrátane monitorovania životného prostredia.

Súvisiace so preparátmi

- I. Dátumy expirácie pre súpravy na transport preparátov sa vzťahujú na odber/prenos preparátov a nie na testovanie preparátov. Preparáty odobrané/prenesené kedykoľvek pred týmito dátumami expirácie sú platné na testovanie za predpokladu, že boli prepravované a skladované v súlade s príbalovým letákom, aj keď uplynul dátum expirácie na transportnej skúmavke.
- J. Vzorky môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto rozboru použite univerzálne bezpečnostné opatrenia (10,11,12). Správne postupy manipulácie a likvidácie by mali byť stanovené na základe platných miestnych usmernení (13). Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s rozborom Aptima HSV 1 & 2 a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi.
- K. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu vzorky. Stabilita vzoriek za prepravných podmienok iných, ako sú odporúčané, sa nehodnotila.
- L. Počas manipulácie s preparátmi sa vyhnite krížovej kontaminácii. Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu pri uvoľňovaní alebo odstraňovaní viečok zo vzoriek. Preparáty môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny organizmov. Uistite sa, že nádoby na vzorky sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu so vzorkou.
- M. Po prebodnutí môže z uzáverov prepravnej skúmavky Aptima za určitých okolností vytiecť tekutina. Ďalšie informácie nájdete v príslušnom *postupe testu*.
- N. Ak laboratórium dostane skúmavku na odber Aptima Multitest Swab Specimen Collection bez sterovej tyčinky, 2 sterové tyčinky alebo sterovú tyčinku nedodávanú spoločnosťou Hologic, preparát je nutné odmietnuť. Predtým, ako vyradíte prepravnú skúmavku bez sterovej tyčinky, skontrolujte, či nejde o prepravnú skúmavku Aptima, pretože táto skúmavka na prepravu vzoriek neobsahuje sterovú tyčinku.

Súvisiace s rozborom

- O. Nezamieňajte, nemiešajte ani nekombinujte reagenty na rozbor zo súprav s rôznymi číslami hlavnej šarže. Kontroly a tekutiny na rozbor sa môžu zamieňať.
- P. Zabráňte kontaminácii reagentů mikróbmí a nukleázami.
- Q. Uzavrite a uložte všetky reagenty na rozbor pri špecifikovaných teplotách. Výkonnosť rozboru môže byť ovplyvnená použitím nesprávne uskladnených reagentů na rozbor. Viac informácií nájdete v časti *Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentami a Postup testovania systému Panther*.
- R. Žiadne reagenty na rozbor ani tekutiny nekombinujte bez konkrétnych pokynov. Reagenty ani tekutiny nedolievajte. Systém Panther overuje hladiny reagentů.
- S. Niektoré reagenty tejto súpravy sú označené rizikovými a bezpečnostnými symbolmi.

Poznámka: Oznámenie o nebezpečenstve odráža klasifikácie kariet bezpečnostných údajov EÚ (SDS). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v KBÚ pre jednotlivé regióny v knižnici kariet bezpečnostných údajov na adrese www.hologicsds.com. Viac informácií o symboloch nájdete vo vysvetlení symbolov na adrese <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informácie o nebezpečenstve, EÚ	
–	Enzyme Reagent HEPES 1 – 5 % TRITON X-100 1 – 5 % H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
–	Enzyme Reconstitution Solution GLYCEROL 20 – 25 % TRITON X-100 5 – 10 % HEPES 1 – 5 % H412 – Škodlivý pre vodné organizmy s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte úniku do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
–	Promoter Reagent MAGNESIUM CHLORIDE 60 – 65 % H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
–	Target Capture Reagent HEPES 5 – 10 % EDTA 1 – 5 % LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 – 5 % H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
–	Amplification Reagent MAGNESIUM CHLORIDE 60 – 65 % H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.

Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiami

A. Nasledujúca tabuľka uvádza podmienky skladovania a stabilitu reagensí a kontrol.

Reagencia	Uskladnenie neotvorených balení	Otvorená súprava (rekonštituovaná)	
		Skladovanie	Stabilita
Amplifikačná reagencia	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na amplifikáciu	15 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ¹
Enzymatická reagencia	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na enzýmy	15 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ¹
Promotorová reagencia	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok promotóra	15 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ¹
Reagencia na zachytenie cieľa	15 °C až 30 °C	15 °C až 30 °C ²	30 dní ¹
Negatívna kontrola	2 °C až 8 °C		Jednorazová liekovka
Pozitívna kontrola	2 °C až 8 °C		Jednorazová liekovka
Interná kontrola	2 °C až 8 °C		Jednorazová liekovka

¹Po odstránení zo systému Panther je nutné reagencie ihneď vrátiť do príslušných skladovacích teplôt.

² Podmienky skladovania pracovnej reagentie na zachytávanie cieľa (reagencia na zachytávanie cieľa s pridanou internou kontrolou).

- B. Všetky nepoužívané rekonštituované reagentie a pracovné reagentie na zachytávanie cieľa (wTCR) zlikvidujte po 30 dňoch alebo po dátume expirácie hlavnej šarže, podľa toho, čo nastane skôr.
- C. Reagentie uchovávané v systéme Panther majú stabilitu v prístroji 120 hodín.
- D. Kontroly sú stabilné do dátumu uvedeného na injekčných liekovkách.
- E.  Promotorová reagencia a rekonštituovaná aktivačná reagencia sú fotosenzitívne. Počas uskladnenia a prípravy na použitie chráňte tieto reagentie pred svetlom.
- F. Zabráňte krížovej kontaminácii pri manipulácii s reagensiami a ich skladovaní. Všetky rekonštituované reagentie pred uskladnením vždy znovu zakryte novými uzávermi reagensí.
- G. **Reagentie nezmrazujte.**

Odber preparátov a skladovanie

Poznámka: So všetkými preparátmi zaobchádzajte tak, ako keby obsahovali potenciálne infekčné činidle. Používajte všeobecné bezpečnostné opatrenia.

Poznámka: Pri manipulácii so vzorkami je nutné predísť krížovej kontaminácii. Napríklad použitý materiál zlikvidujte bez toho, aby ste prechádzali ponad otvorené skúmavky.

Môžu sa použiť preparáty výteru odobrané klinickým lekárom z anogenitálnych a orálnych lézií, ktoré sa umiestnia do STM alebo VTM.

Vzorky lézií sa môžu odoberať pomocou:

- Odberová súprava Aptima™ Multitest Swab Specimen Collection Kit (pre STM)
- Komerčne dostupná súprava na odber VTM (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 a Remel M5)

A. Pokyny k odberu

Špecifické pokyny na odber nájdete v príslušnom príbalovom letáku súpravy na odber preparátov (odberová súprava Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit pre preparáty odobrané v STM alebo súprava na transport preparátov Aptima Specimen Transfer Kit™ pre preparáty odobrané vo VTM).

B. Prevoz a skladovanie preparátov pred testovaním

1. Sterové preparáty odobraté pomocou odberovej súpravy Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit
 - a. Preparát prepravujte a skladujte v transportnej skúmavke na vzorky Aptima pri teplote 2 °C až 30 °C až 60 dní po odbere.
 - b. Ak je potrebné dlhšie skladovanie, preparáty skladujte pri teplote ≤ -20 °C do 90 dní po odbere.
2. Preparáty výteru odobraté pomocou odberovej súpravy VTM
 - a. Preparát prepravte a skladujte v skúmavke VTM pri teplote 2 °C až 8 °C až 3 dni po odbere.
 - b. Pred testovaním pomocou rozboru Aptima HSV 1 & 2 sa preparáty odobraté do VTM musia preniesť do prenosovej skúmavky zo súpravy na prenos preparátu Aptima, ktorá obsahuje 2,9 ml STM podľa pokynov uvedených nižšie.
 - c. Príprava oblasti na prenos preparátov
 - i. Nasadte si čisté bezpráškové rukavice.
 - ii. Pracovné plochy a pipetory utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného.
 - iii. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s pracovnými povrchmi a pipetormi a potom opláchnite DI vodou. Vysušte povrchy čistými papierovými utierkami.
 - iv. Zakryte pracovný stôl čistými absorpčnými krytmi na laboratórny stôl podlepenými plastom.
 - v. Do oblasti na prenos preparátov vložte stojan na testové skúmavky obsahujúci dostatočný počet prenosových skúmaviek na vzorky Aptima podľa počtu testovaných vzoriek VTM.
 - vi. Označte každú prenosovú skúmavku na vzorky Aptima sekvenčným číslom alebo číslom ID vzorky.
 - d. Postup prenosu vzoriek
 - i. Riziko kontaminácie iných vzoriek znížite, ak budete vždy pracovať iba s jednou vzorkou VTM.
 - ii. Nasadte si čisté bezpráškové rukavice a uložte testované vzorky do oblasti na prenos preparátov.
 - iii. Získajte 1 vzorku VTM. Odstráňte uzáver z príslušnej prenosovej skúmavky na vzorky Aptima, uzáver uložte na pracovný stôl závitmi otočenými nahor.
 - iv. Premiešajte vzorku VTM v trepačke po dobu 3 až 10 sekúnd. Odstráňte uzáver zo skúmavky, uzáver uložte na pracovný stôl závitmi otočenými nahor.

- v. Do 1 minúty od vortexovania napipetujte 0,5 ml preparátu VTM do prenosovej skúmavky na preparát Aptima zo súpravy na prenos preparátov Aptima, ktorá obsahuje 2,9 ml STM.
- vi. Špičku pipety zlikvidujte v nádobe s 0,5 % roztokom chlórnanu sodného.
- vii. Znovu pevne uzavrite prenosovú skúmavku na vzorky Aptima. Opatrne 2 až 3-krát skúmavku prevráťte, aby ste zaistili úplné zmiešanie preparátu.
- viii. Znovu uzatvorte skúmavku obsahujúcu zostávajúcu vzorku VTM a v prípade potreby ju uchovajte pri teplote $\leq -70^{\circ}\text{C}$.
- ix. Opakovaním krokov iii až viii preneste následné preparáty. Často si meňte si bezpráškové rukavice, hlavne, ak sa dostanú do kontaktu so vzorkou.
- e. Po prenose do transportnej skúmavky na preparát Aptima možno preparáty prepravovať a uchovávať pri teplote 2°C až 30°C až 30 dní.
- f. Ak je nutné dlhšie uskladnenie, zmrazte preparát VTM v prenosovej skúmavke na vzorky Aptima po dobu 90 dní pri teplote $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

C. Uchovávanie preparátov po testovaní

- 1. Vzorky, ktoré boli testované, musia byť skladované vo vzpriamenej polohe v stojane.
- 2. Skúmavky na preparáty by mali byť pokryté novým, čistým plastovým filmom, fóliovou bariérou alebo vrchnákom.

Poznámka: Akékoľvek okolnosti, ktoré vedú k strate alebo odpareniu média počas prepravy, manipulácie alebo skladovania, môžu ovplyvniť schopnosť pipetovať viacero alikvótov.

- 3. Ak sa testované preparáty musia zmraziť alebo odoslať, odstráňte priehľadný uzáver a prepravné skúmavky na preparáty opatrite novými nepreniknuteľnými uzávermi. Ak sa preparáty musia prepravovať na testovanie do iného zariadenia, musia sa dodržať odporúčané teploty.
- 4. Pred otvorením predtým testovaných a znovu uzavretých preparátov sa musia transportné skúmavky na vzorky odstreďovať 5 minút pri 420 RCF (relatívna odstredivá sila), aby sa všetka tekutina dostala na dno skúmavky. **Predchádzajte vystrekovaniu a krížovej kontaminácii.**

Poznámka: Preparáty sa musia prepravovať v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi usmerneniami týkajúcimi sa prepravy.

Systém Panther

Reagencie pre rozbor Aptima HSV 1 & 2 sú uvedené pod systémom Panther. Identifikačné symboly reagencií sú uvedené aj vedľa názvu reagencií.

Poskytnuté reagencie a materiály

Súprava rozborov Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2

100 testov (2 škatule s rozbormi a 1 súprava kontrol), kat. č. PRD-03568

Kontroly sú k dispozícii samostatne. Pozrite si jednotlivé katalógové čísla nižšie.

Chladené balenie rozboru Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
A	Amplifikačná reagentia <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
E	Enzymatická reagentia <i>Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
PRO	Promotorová reagentia <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
IC	Interná kontrola <i>Neinfekčné nukleové kyseliny v pufrovanom roztoku.</i>	1 x 0,3 ml

Balenie rozboru Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 s izbovou teplotou (po prijatí uchovávať pri teplote 15 °C až 30 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
AR	Rekonštitučný roztok na amplifikáciu <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Rekonštitučný roztok na enzýmy <i>Pufrovaný roztok HEPES obsahuje povrchovo aktívnu látku a glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Rekonštitučný roztok promótora <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Reagentia na zachytenie cieľa <i>Nukleové kyseliny v pufrovanom soľnom roztoku obsahujúcom tuhú fázu a neinfekčné nukleové kyseliny.</i>	1 x 26,0 ml
	Rekonštitučné prstence	3
	List hlavného čiarového kódu	1 list

Súprava kontrol Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (kat. č. PRD-03569)
(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
KONTROLA –	Negatívna kontrola <i>Pufrovaný roztok.</i>	5 x 2,7 ml
KONTROLA +	Pozitívna kontrola <i>Neinfekčné nukleové kyseliny v pufrovanom roztoku.</i>	5 x 1,7 ml
	List s čiarovým kódom kontroly	1 list

Potrebné materiály, ale dostupné samostatne

Poznámka: Materiály s uvedenými katalógovými číslami sú dostupné od spoločnosti Hologic, pokiaľ nie je uvedené inak.

Materiál	Kat. Č.
Systém Panther	303095
Systém Panther Fusion	PRD-04172
Systém Panther na nepretržitý odvod tekutín a odpadu (Panther Plus)	PRD-06067
Súprava chodu Panther pre rozbor v reálnom čase (iba pre rozbor v reálnom čase)	PRD-03455 (5 000 testov)
<i>Súprava kvapalín rozboru Aptima™ (takisto označovaná ako súprava univerzálnych kvapalín)</i>	303014 (1 000 testov)
<i>obsahuje premývací roztok Aptima, pufer na deaktiváciu tekutiny Aptima a olejovú reagensiu Aptima</i>	
Viacskúmavkové jednotky (MTU)	104772-02
Súprava odpadových vriec Panther	902731
Kryt odpadkového koša Panther	504405
alebo súprava chodu Panther	303096 (5 000 testov)
<i>(pri spracovaní rozborov TMA nevykonávaných v reálnom čase paralelne s rozborom TMA v reálnom čase)</i>	
<i>Obsahuje MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkového koša, tekutinu na automatickú detekciu a testové kvapaliny</i>	
Súprava s testovacími tekutinami Aptima	303014 (1 000 testov)
<i>(obsahuje premývací roztok Aptima, pufer na deaktiváciu tekutiny Aptima a olejovú reagensiu Aptima)</i>	
Viacskúmavkové jednotky (MTU)	104772-02
Špičky, 1 000 µl, filtrované, vodivé, so snímaním tekutiny a jednorazové	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Nie všetky produkty sú dostupné vo všetkých oblastiach. Informácie špecifické pre danú oblasť vám poskytne váš zástupca</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Súprava na prenos vzoriek Aptima	301154C
<i>na použitie s preparátmi odobranými pomocou VTM</i>	

Súprava na prenos vzoriek Aptima – určené na tlač <i>na použitie s preparátmi odobranými pomocou VTM</i>	PRD-05110
Odberová súprava Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit	PRD-03546
Bielidlo, 5,0 % až 8,25 % (0,7 M až 1,16 M) roztok chlórnanu sodného	–
Jednorazové bezpráškové rukavice	–
Prepichovacie uzávery Aptima	105668
Náhradné nepreniknuteľné uzávery	103036A
Náhradné uzávery na reagenty <i>Rekonštitučné roztoky pre amplifikačnú, enzymatickú a promotorovú reagentiu</i>	–
<i>TCR</i>	<i>CL0041 (100 uzáverov)</i> <i>501604 (100 uzáverov)</i>
Plastové kryty na laboratórne stoly	–
Utierky nepúšťajúce vlas	–
Pipetovač	–
Tips (Špičky)	–
Vortexová miešačka	–
Odstredivka	–

Voliteľné materiály	Kat. Č.
Hologic Bleach Enhancer posilňovač bieliaceho účinku na čistenie na bežné čistenie povrchov a zariadení	302101
Trepačka skúmaviek	–

Postup testovania systému Panther

Poznámka: Ďalšie informácie o postupoch nájdete v prevádzkovej príručke systému Panther.

A. Príprava pracovnej oblasti

1. Vyčistíte pracovné povrchy, kde budú pripravené reagenty. Pracovné plochy utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite deionizovanou (DI) vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Povrch pracovnej dosky zakryte čistými, savými laboratórnymi plachtami s plastovou podšívku.
2. Vyčistíte samostatný pracovný povrch, kde budete pripravovať vzorky. Postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).
3. Vyčistíte všetky pipety. Postupujte podľa vyššie opísaného postupu čistenia (krok A.1).

B. Rekonštitúcia/príprava reagentov novej súpravy

Poznámka: Rekonštitúcia reagentov sa vykoná pred začiatkom akejkoľvek práce na systéme Panther.

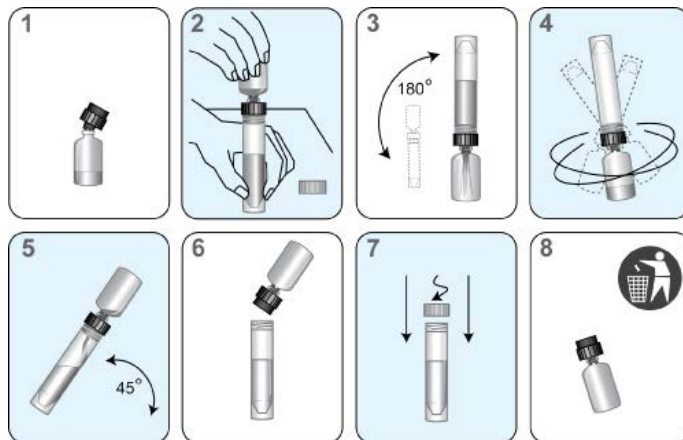
1. Pred testovaním sa musia amplifikačné, enzymové a promotorové reagenty rekonštituovať spojením obsahu fliaš lyofilizovanej reagentie s príslušným rekonštitučným roztokom.
 - a. Pred použitím nechajte lyofilizované reagenty dosiahnuť izbovú teplotu (15 °C až 30 °C).

- b. Každý rekonštitučný roztok spárujte s príslušnou lyofilizovanou reagensiou. Pred nasadením rekonštitučného prstenca sa uistite, že rekonštitučný roztok a reagentia majú na štítku zhodné symboly.
- c. Skontrolujte čísla šarží na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že sú spárované príslušné reagentie. Označte uzávery fliaš s rekonštitučným roztokom.
- d. Otvorte sklenenú liekovku s lyofilizovaným činidlom a pevne zasuňte vrúbkovaný koniec rekonštitučného prstenca do otvoru sklenenej liekovky (Obrázok 1, krok 1).
- e. Otvorte príslušnú fľaštičku s rekonštitučným roztokom a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.
- f. Kým držíte fľašu s rekonštitučným roztokom na pracovnom stole, pevne zasuňte druhý koniec rekonštitučnej objímky do otvoru fľaše s rekonštitučným roztokom (Obrázok 1, krok 2).
- g. Pomaly prevráťte zostavené fľaše. Roztok sa nechajte z fľaše s rekonštitučným roztokom vytiecť do sklenenej liekovky (Obrázok 1, krok 3).
- h. Roztok vo fľaši jemne premiešajte krúživým pohybom. Pri krútení fľaše sa vyvarujte vytváraniu peny (Obrázok 1, krok 4).
- i. Počkajte aspoň 15 minút, kým lyofilizovaná reagentia prejde do roztoku, potom znova obráťte zostavené fľaše a nakloňte ich v 45° uhle, aby sa minimalizovalo penenie (Obrázok 1, krok 5). Nechajte všetku tekutinu odtiecť späť do fľaše s rekonštitučným roztokom.
- j. Odstráňte rekonštitučný prstenec a sklenenú liekovku (Obrázok 1, krok 6).
- k. Uzatvorte plastovú fľašu uzavrite buď pôvodným uzáverom s etiketou, ktorý zodpovedá danému činidlu, alebo novým uzáverom. Nezamieňajte uzávery. Na štítku zaznamenajte údaje operátora a dátum rekonštitúcie (Obrázok 1, krok 7).
- l. Zahodte rekonštitučnú objímku a sklenenú liekovku (Obrázok 1, krok 8).

Možnosť: Je povolené dodatočné premiešanie amplifikačných, enzýmových a promotorových reagensí pomocou premiešavača skúmaviek. Reagentie je možné premiešať tak, že plastovú fľašu s nasadeným uzáverom umiestnite na premiešavač skúmaviek nastavený na 20 otáčok za minútu (alebo ekvivalent) na minimálne 5 minút.

Varovanie: Pri príprave reagensí sa vyhnite tvorbe peny. Pena negatívne ovplyvňuje meranie hladiny v systéme Panther.

Varovanie: Na dosiahnutie očakávaných výsledkov testu je potrebné reagentie dôkladne premiešať.



Obrázok 1. Proces rekonštitúcie reagensie

2. Pripravte pracovnú reagensiu na záchyt cieľa (wTCR)
 - a. Spárujte vhodné fľaše TCR a IC.
 - b. Skontrolujte čísla šarží reagensií na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že v súprave sú spárované príslušné reagensie.
 - c. Otvorte fľašu TCR a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.
 - d. Otvorte fľašu IC a celý obsah nalejte do fľaše TCR. Očakávajte, že v IC fľaši zostane malé množstvo tekutiny.
 - e. Uzavrite fľašu a jemne rozkrúťte roztok, aby sa obsah premiešal. Počas tohto kroku zabráňte vytvoreniu peny.
 - f. Na štítku zaznamenajte iniciály operátora a aktuálny dátum.
 - g. Zahodte fľašu IC a uzáver.

C. Príprava reagensií pre predtým pripravené reagensie

1. Predtým pripravené amplifikačné, enzymatické a aktivačné reagensie musia dosiahnuť izbovú teplotu 15 °C až 30 °C pred začiatkom rozboru.

Možnosť: Ďalšie miešanie amplifikačných, enzymatických a promotorových reagensií pomocou trepačky skúmaviek je povolené. Reagensie sa môžu zmiešavať umiestnením znova uzatvorenej plastovej fľaše na trepačku skúmaviek nastavenú na 20 RPM (alebo ekvivalent) po dobu minimálne 25 minút.

2. Ak wTCR obsahuje zrazeninu, zahrievajte wTCR pri teplote 42 °C až 60 °C až 90 minút. Pred použitím nechajte wTCR ekvilibrovať na teplotu miestnosti. Nepoužívajte, ak zrazenina pretrváva.
3. Overte, či reagensie neprekročili čas stability pri skladovaní vrátane stability v prístroji.
4. Pred zavedením do systému jemným prevrátením dôkladne premiešajte každú reagensiu. Pri prevracaní reagensií zabráňte peneniu. Tento krok sa nevyžaduje, ak sa reagensie vkladajú do systému priamo po miešaní na trepačke skúmaviek.
5. Fľašky reagensií nedopĺňajte. Systém Panther rozpozná a odmietne fľaše, ktoré boli doplnené.

Varovanie: Na dosiahnutie očakávaných výsledkov rozboru je potrebné adekvátne premiešanie reagensií.

D. Manipulácia s preparátmi

1. Vizuálne skontrolujte, že každá skúmavka na preparát spĺňa nasledujúce kritériá:
 - a. Prítomnosť jednej ružovej sterovej tyčinky Aptima v skúmavke na odber Aptima Multitest Swab Specimen Collection.
 - b. Absencia sterovej tyčinky v transportnej skúmavke na preparáty Aptima pre preparáty VTM.
2. Pred spracovaním nechajte kontroly a preparáty dosiahnuť izbovú teplotu.

Poznámka: Pred vykonaním testu a/alebo na vyriešenie podozrenia na neplatné výsledky súvisiace so vzorkou je možné vzorky premiešať na vortexovej miešačke pri vysokej rýchlosti minimálne 3 minúty, a následne 1 minútu pri nízkej rýchlosti (aby sa tekutina v skúmavke stiahla na dno).

3. Pred vložením do stojana skontrolujte skúmavky na preparát:
 - a. Ak skúmavka na vzorky obsahuje bublinky v priestore medzi tekutinou a uzáverom, centrifugujte skúmavku po dobu 5 minút rýchlosťou 420 RCF s cieľom eliminovať bublinky.

- b. Ak má skúmavka na vzorky nižší objem než typicky, keď sú dodržané pokyny na odber, centrifugujte skúmavku po dobu 5 minút rýchlosťou 420 RCV a uistite sa, že v uzávere nezostáva žiadna tekutina.

Poznámka: Nedodržanie krokov 3a – 3b môže mať za následok uvoľnenie tekutiny z uzáveru skúmavky na vzorku.

Poznámka: Až 5 samostatných alikvótov je možné testovať z každej skúmavky na preparát. Pokusy o pipetovanie viac než 5 alikvótov zo skúmavky na preparát môžu viesť k chybám spracovania.

E. Príprava systému

1. Nastavte systém podľa pokynov uvedených v prevádzkovej príručke systému Panther/ Panther Fusion a v časti *Poznámky k postupu*.

Poznámka: Uistite sa, že sú použité reagenčné stojany s vhodnou veľkosťou a adaptéry TCR.

2. Vložte vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. Skúmavky s pozitívnou kontrolou a negatívnou kontrolou je možné vložiť do ľubovoľnej polohy stojana alebo akéhokoľvek pruhu stojanov na vzorky v systéme Panther. Pipetovanie preparátu sa začne, keď je splnená 1 z nasledujúcich 2 podmienok:
 - a. Kontroly sú v súčasnosti spracovávané systémom.
 - b. platné výsledky pre kontroly sú zaregistrované v systéme.
2. Po pipetovaní skúmaviek s kontrolami a ich spracovaní pre špecifickú súpravu reagensí sa preparáty pacientov môžu testovať s príslušnou súpravou až 24 hodín, pokiaľ nenastane nasledujúce:
 - a. Výsledky kontroly sú neplatné.
 - b. Súprava pridruženej reagensie na rozbor sa odstráni zo systému.
 - c. Súprava pridruženej reagensie na rozbor prekročila limity stability.
3. Každá skúmavka s kontrolou sa má otestovať jedenkrát. Pokusy o pipetovanie zo skúmavky viac ako jedenkrát môžu viesť k chybám spracovania.

B. Teplota

Teplota miestnosti je definovaná ako 15 °C až 30 °C.

C. Prášok rukavíc

Tak ako v každom reagenčnom systéme, prebytočný prášok na niektorých rukaviciach môže spôsobiť kontamináciu otvorených skúmaviek. Odporúčajú sa bezprašné rukavice.

Kontrola kvality

A. Spustiť kritériá platnosti

Softvér automaticky určuje spustenie platnosti. Softvér zruší platnosť cyklu, ak jedna alebo obe kontroly (negatívna a pozitívna) majú neplatné výsledky.

Operátor môže zrušiť cyklus, ak sa počas vykonávania rozboru zistia a zdokumentujú technické problémy, problémy obsluhy alebo nástrojov.

Neplatný cyklus sa musí zopakovať.

B. Platnosť kontroly

Tabuľka 1 definuje kritériá platnosti TČas pre negatívne a pozitívne kontroly.

Tabuľka 1: Kritériá platnosti TČas

	IC TČas	HSV-1 TČas	HSV-2 TČas
Negatívna kontrola	$\geq 7,0$ a $\leq 40,0$	-	-
Pozitívna kontrola	$\geq 7,0$ a $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ a $\leq 35,0$	$\geq 3,0$ a $\leq 35,0$

Poznámka: Externé vzorky na kontrolu kvality (nie sú súčasťou dodávky) by sa mali testovať v súlade s miestnymi, štátnymi a/alebo federálnymi predpismi alebo požiadavkami na akreditáciu a štandardnými postupmi kontroly kvality príslušného laboratória.

Poznámka: Ak potrebujete pomoc s kontrolami mimo rozsahu, obráťte sa na technickú podporu spoločnosti Hologic.

Poznámka: Keď nie je možné vypočítať TČas, zobrazí sa pomlčka (-).

Interpretácia testu

Výsledky testov sú automaticky určené testovacím softvérom. Výsledky detekcie HSV-1 a HSV-2 sa uvádzajú samostatne. Tabuľka 2 uvádza možné výsledky zaznamenané v platnom priebehu a interpretácie výsledkov. Ako výsledok by sa mal uvádzať prvý platný výsledok. Vzorky s neplatnými výsledkami testov by sa mali otestovať znovu. Ak je výsledok neplatný aj pri opakovanom teste, je potrebné odobrať novú vzorku.

Tabuľka 2: Interpretácia výsledkov

Výsledok HSV-1	Výsledok HSV-2	Interpretácia
HSV-1 neg	HSV-2 neg	Negatívne: Nedetegovala sa žiadna mRNA HSV-1 alebo HSV-2
HSV-1 neg	HSV-2 POS	HSV-2 pozitívny: Detegovaná HSV-2 mRNA
HSV-1 POS	HSV-2 neg	HSV-1 pozitívny: Detegovaná HSV-1 mRNA
HSV-1 POS	HSV-2 POS	HSV-1 a HSV-2 pozitívne: Detegované HSV-1 a HSV-2 mRNA
Neplatné	Neplatné	Neplatné: Pri generovaní výsledku došlo k chybe. Preparát je nutné opätovne otestovať.

Tabuľka 3 uvádza kritériá TČas na určenie výsledku pre konkrétny preparát. Test môže byť neplatný aj z dôvodu, že sú mimo očakávaného rozsahu iné parametre.

Tabuľka 3: Kritériá TČas

	IC TČas	HSV-1 TČas	HSV-2 TČas
Negatívny	$\geq 7,0$ a $\leq 45,0$	-	-
HSV-1 pozitívny	- alebo $\geq 7,0$ a $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ a $\leq 53,0$	-
HSV-2 negatívny			
HSV-1 negatívny	- alebo $\geq 7,0$ a $\leq 53,0$	-	$\geq 3,0$ a $\leq 53,0$
HSV-2 pozitívny			
HSV-1 pozitívny	- alebo $\geq 7,0$ a $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ a $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ a $\leq 53,0$
HSV-2 pozitívny			
Neplatné	-	-	-

Poznámka: Keď nie je možné vypočítať TČas, zobrazí sa pomlčka (-).

Obmedzenia

- A. Použitie tohto rozboru je obmedzené na personál, ktorý je vyškolený v danom postupe. Nedodržanie pokynov uvedených v tomto príbalovom letáku môže viesť k chybným výsledkom.
- B. Spoľahlivé výsledky závisia od adekvátneho odberu preparátov, transportu, uchovávaní a spracovania.
- C. Pomôcka nie je určená na použitie s mozgovomiechovým mokom ani na prenatálny skrining.
- D. Výsledky rozboru Aptima HSV 1 & 2 je potrebné interpretovať v spojení s inými klinickými údajmi, ktoré má klinický lekár k dispozícii.
- E. Negatívny výsledok rozboru Aptima HSV 1 & 2 nevylučuje možnú infekciu, keďže výsledky závisia od adekvátneho odberu preparátov. Výsledky rozboru môžu byť ovplyvnené nesprávnym odberom preparátov, technickou chybou, klinickým štádiom lézie, z ktorej bola odobratá vzorka alebo cieľovými hladinami pod hranicou detekcie rozboru.

Analytický výkon rozboru v systéme Panther

Vírusové transportné médium (VTM)

Výkonnosť rozboru Aptima HSV 1 & 2 bola hodnotená s bežne používanými typmi VTM (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 a Remel M5). Každé médium bolo samostatne obohatené vírusovými časticami kmeňa HSV-1 MacIntyre alebo kmeňa HSV-2 MS pri cca 3-násobku limitu detekcie (LoD). Každý panel sa potom preniesol podľa pokynov v príbalovom letáku STM. Na posúdenie potenciálnej interferencie rôznych typov VTM sa HSV-negatívne (bez obohatenia) panely tiež riedili v STM a testovali v 40 replikátoch na panel. Všetky negatívne panely boli 100 % platné a negatívne a všetky panely s HSV-1 alebo HSV-2 boli 100 % pozitívne na príslušný typ HSV.

Analytická citlivosť

Analytická citlivosť/LoD rozboru Aptima HSV 1 & 2 bola stanovená testovaním série panelov pozostávajúcich z vírusu HSV-1 alebo HSV-2 zriedeného v spojených negatívnych klinických preparátoch v STM aj VTM zriedených v maticiach na báze STM. V prípade HSV-1 sa testovali MacIntyrove a vírusové kmene HF. V prípade HSV-2 sa testovali kmene MS a G. Pre každého člena panelu sa testovalo najmenej 60 replikátov pri každej koncentrácii pre každú maticu a kmeň vírusu v 3 šaržiach reagencií.

Vykonala sa probitová regresná analýza, aby sa poskytol predpokladaný 95 % limit detekcie pre každý kmeň HSV v každej matici v každej šarži. LoD sa určil ako koncentrácia, pri ktorej sa dosiahne ≥ 95 % pozitivita testovaných replikátov na základe najvyššieho výpočtu spomedzi 3 šarží reagencií.

Tabuľka 4: HSV 1 & 2 LoD vo VTM a STM

Typ/kmeň HSV	Typ preparátu	LoD
		TCID 50/ml (95 % spoľahlivosť)
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)

Overenie LoD

LoD sa overoval pomocou 2 klinických izolátov HSV-1 a 2 klinických izolátov HSV-2, ktoré boli izolované z HSV-pozitívnych klinických preparátov a kultivované a kvantifikované interne. Každý izolát sa testoval rozborom Aptima HSV 1 & 2 použitím 60 replikátov, každý pri 1x LoD, 3x LoD a 10x LoD. Testovanie sa vykonalo v matici STM aj VTM pre všetky 4 klinické izoláty a použili sa 3 šarže reagencií. Všetky replikáty pre všetky klinické izoláty vo všetkých 3 testovaných koncentráciách boli detegované pomocou rozboru Aptima HSV 1 & 2, čo dokazuje, že rozbor dokáže presne detegovať rozsah izolátov HSV-1 aj HSV-2 pri stanovenom LoD.

Koinfekcia

Panely boli vytvorené s vírusovými časticami HSV-1 pri 3x LoD a vírusom HSV-2 pri 1 000x LoD a s HSV-2 pri 3x LoD a HSV-1 pri 1 000x LoD. Boli vytvorené ďalšie panely obsahujúce HSV-2 pri 100-násobku koncentrácie HSV-1 pri 3x LoD. Všetky testy viedli k 100 % detekcii HSV-1 aj HSV-2.

Krížová reaktivita

Na vyhodnotenie analytickej citlivosti a špecificity rozboru Aptima HSV 1 & 2 v prítomnosti necielených mikroorganizmov, ktoré by mohli byť prítomné v klinických preparátoch, boli v STM zostavené panely necielených mikroorganizmov na testovaciu koncentráciu 1×10^5 jednotiek/ml pre vírusy a 1×10^6 jednotiek/ml pre všetky ostatné organizmy. Organizmy sa testovali v neprítomnosti HSV alebo v prítomnosti buď HSV-1, alebo HSV-2 pri 3x LoD. Štyridsaťsedem zo 48 testovaných mikróbov nemalo žiadny vplyv na výkon rozboru pri 1×10^6 jednotkách/ml; *Streptococcus pneumoniae* nevykazoval žiadnu interferenciu pri 1×10^5 jednotkách/ml (Tabuľka 5).

Tabuľka 5: Analytická špecificita

Mikroorganizmus	Koncentrácia
<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 kópií RNA/ml ²
Adenovírus typ 1	1×10^5 TCID50/ml ³
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1×10^6 CFU/ml ¹
<i>Atopobium vaginae</i>	1×10^6 kópií 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}
BK vírus	1×10^5 kópií DNA/ml ³
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Candida glabrata</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Clostridium difficile</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Clostridium perfringens</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Enterococcus faecium</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}
Vírus Epstein-Barr	1×10^5 kópií 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}
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1×10^6 CFU/ml ^{1,2}

Tabuľka 5: Analytická špecificita (pokračovanie)

Mikroorganizmus	Koncentrácia
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
Vírus hepatitídy 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 kópií RNA/ml ²
<i>Mycoplasma orale</i>	1x10 ⁶ kópií 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 TCID50/ml ³
<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus mitis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100 000 CFU/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml ^{1,2}
Vírus varicella-zoster	1x10 ⁵ kópií DNA/ml ³
Západonílsky vírus	1x10 ⁵ TCID50/ml ³

¹CFU = jednotky tvoriace kolónie.²Zabezpečené interne od spoločnosti Hologic, Inc.³Získané od spoločnosti ZeptoMetrix Corporation (Buffalo NY).⁴IU = medzinárodné jednotky.

Interferencia

Potenciálne interferujúce látky uvedené v Tabuľka 6 boli testované rozborom Aptima HSV 1 & 2 pri počiatočných koncentráciách 5 % obj./obj. (V/V), čo zodpovedá 100 % kapacity výteru (SC); alebo v koncentráciách 0,03 % alebo 5 % hmotn./obj. (W/V); alebo pri 4 x 10⁵ buniek/ml pre leukocyty. Panely sa vytvorili v STM a vyhodnotili sa potenciálne účinky na citlivosť a špecificitu rozboru. Citlivosť sa hodnotila samostatne pre HSV-1 aj HSV-2 doplnením vírusových častíc do panelov obsahujúcich látky s 3-násobnou hodnotou LoD. Panely HSV-negatívnych látok obsahujúce každú látku sa hodnotili aj z hľadiska špecificity.

V prítomnosti reprezentatívnej značky nasledujúcich exogénnych látok pri 5 % W/V alebo V/V (100 % SC) sa nepozoroval žiadny vplyv na výkonnosť rozboru: vaginálny lubrikant; krém proti plesniam; intímna sprcha; ženský sprej; lieky na opar; balzam na pery; telové mlieko; telový púder; ľadový premývací roztok kyseliny octovej; krém na hemoroidy; prostriedok na potlačenie kašľa; zubná

pasta a ústna voda. Spermicíd/antikoncepčné želé nespôsobili žiadnu interferenciu pri koncentrácii 4 % W/V alebo 80 % SC. V prítomnosti reprezentatívnej značky antivírusového lieku v koncentrácii 5 % W/V sa nepozorovala žiadna interferencia. Žiadny vplyv na výkon rozboru sa nepozoroval v nasledujúcich endogénnych látkach testovaných pri 5 % V/V alebo W/V (100 % SC): moč, hlien a semenná tekutina. V nasledujúcich endogénnych látkach sa pri uvedených konečných koncentráciách nepozorovala žiadna interferencia: leukocyty (4×10^5 buniek/ml); sliny (4 % W/V / 80 % SC); bielkoviny (4 % W/V / 80 % SC); plná krv (0,5 % V/V / 10 % SC); a výkaly (0,03 % W/V / 0,6 % SC).

Tabuľka 6: Interferujúce látky

Látka	Značka/zdroj	Konečná koncentrácia*
Vaginálny lubrikant	KY Jelly	5 % V/V
Spermicíd/antikoncepčné želé	Options Gynol II	4 % W/V
Antifungálny krém	Monistat 3	5 % W/V
Preplach	Up & Up Feminine Wash	5 % V/V
Sprej pre ženy	Dezodorant pre ženy FDS	5 % W/V
Lieky na opary	Releev	5 % W/V
Balzam na pery	Carmex	5 % W/V
Telové mlieko	Vaseline Aloe Fresh	5 % W/V
Prášok	Summer's Eve Powder	5 % W/V
Roztok na premývanie s ľadovou kyselinou octovou	roztok na premývanie s ľadovou kyselinou octovou	5 % V/V
Krém na hemoroidy	Príprava H	5 % W/V
Moč	Vlastný odber moču	5 % V/V
Plná krv	Vlastný odber plnej krvi	0,5 % V/V
Leukocyty	Biological Specialty Corporation Leukocytes	4×10^5 buniek/ml
Sliny	Vlastný odber slín	4 % W/V
Hlien	Sigma Aldrich Mucine	0,3 % W/V
Semenná tekutina	Semenná tekutina	5 % V/V
Výkaly	Výkaly	0,03 % W/V
Prostriedok na potlačenie kašľa	Dayquil	5 % V/V
Zubná pasta	Sensodyne	5 % W/V
Proteín	Kazein	4 % W/V
Antivírusový liek	Acyclovir	5 % W/V
Ústna voda	Listerene	5 % V/V

*Konečné koncentrácie predstavujú konečnú koncentráciu (FC) vo vzorke pri testovaní na prístroji Panther. Pokiaľ ide o odber SC, 5 % FC = 100 % SC; 4 % FC = 80 % SC; 0,5 % FC = 10 % SC; 0,03 % FC = 0,6 % SC.

Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť rozboru Aptima HSV 1 & 2 sa hodnotila na 3 externých pracoviskách v USA. Testovanie sa uskutočnilo použitím 3 šarží reagensií rozboru a 6 operátorov (2 na každom pracovisku). Na každom pracovisku sa testovalo najmenej 6 dní. Členy panelu sa vytvorili pridaním vírusových častíc HSV-1 a/alebo HSV-2 do STM. Konečné koncentrácie HSV-1 boli v rozsahu od 0 TCID₅₀/ml do 86,96 TCID₅₀/ml a konečné koncentrácie HSV-2 boli v rozsahu od 0 TCID₅₀/ml do 1,63 TCID₅₀/ml.

Robustnosť rozboru Aptima HSV 1 & 2 sa hodnotila testovaním HSV-negatívnych členov panelu a členov panelu obsahujúcich nízke a stredné hladiny HSV-1 a HSV-2. Zhoda s očakávanými výsledkami bola 100 % pre HSV-1 a HSV-2 u negatívnych a mierne pozitívnych členov panelu a ≤ 100 % u členov panelu s koncentraciami blízko alebo pod 95 % LoD rozboru v STM s vírusovými časticami.

Tabuľka 7 uvádza zhodu výsledkov rozboru Aptima HSV 1 & 2 s očakávanými výsledkami pre všetky členy panelu.

Tabuľka 7: Zhoda výsledkov rozboru Aptima HSV 1 & 2 s očakávanými výsledkami

Konc.		Cieľová koncentrácia (TCID ₅₀ /ml)		Očakávaný výsledok		N	Zhodné (n)		Zhoda (%) (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 spoľahlivosti, Conc = koncentrácia, HNeg = vysoká negativita, LPos = nízka pozitivita, MPos = stredná pozitivita, Neg = negatívne, Pos = pozitívne.

Tabuľka 8 uvádza variabilitu signálu HSV-1 a HSV-2 u nízkych a stredne pozitívnych členov panelu medzi pracoviskami, medzi operátormi, medzi šaržami, medzi dňami, medzi cyklami, v rámci cyklov a celkovo u členov panelu s pozitívnymi výsledkami rozboru Aptima HSV 1 & 2.

Tabuľka 8: Variabilita signálu rozboru Aptima HSV 1 & 2 u nízko a stredne pozitívnych členov panelu

Vírus	Konc.	N	Priemer TČas	Medzi pracoviskami	Medzi operátormi	Medzi šaržami	Medzi dňami	Medzi cyklami	V rámci cyklov	Spolu
				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)

Conc = koncentrácia, CV = variačný koeficient, LPos = nízka pozitivita, MPos = stredná pozitivita, SD = štandardná odchýlka.

Poznámka: Variabilita niektorých faktorov môže byť číselne negatívna. Môže sa to stať, ak je variabilita spôsobená týmito faktormi veľmi malá. V týchto prípadoch sú SD a CV zobrazené ako 0.

Výkonnosť HSV-2 v umelo pripravenej orálnej klinickej matrici

Testovanie pomocou rozboru Aptima HSV 1 & 2 sa uskutočnilo použitím umelej matrice klinických preparátov, aby sa poskytli ďalšie údaje o výkonnosti na detekciu HSV-2 v orálnych vzorkách. Vírusové častice kmeňa HSV-2 MS sa pridali do HSV-negatívnych VTM alebo STM orálnych klinických matric pri 3x LoD alebo 1 000x LoD pre každé príslušné médium. Pätnásť replikátov HSV-negatívnych vzoriek, dvadsaťpäť replikátov HSV-2 pri 3x LoD a dvadsaťpäť opakovaní HSV-2 pri 1 000x LoD pre matrice VTM aj STM testovali operátori, ktorí boli zaslepení voči obsahu panelu. Výsledky ukázali 100 % detekciu pozitívnych orálnych umelých panelov obsahujúcich HSV-2 a 0 % detekciu vo všetkých negatívnych vzorkách v klinických matriciach STM aj VTM.

Klinický výkon rozboru v systéme Panther

Klinický výkon

Na stanovenie výkonnostných charakteristík rozboru Aptima HSV 1 & 2 sa vykonala prospektívna multicentrická klinická štúdia. Muži a ženy (n = 839) s aktívnymi kožnými léziami v anogenitálnej¹ alebo orálnej² oblasti boli zaradení z 19 klinických pracovísk v USA, vrátane plánovaného rodičovstva, dermatológie, pediatrie/dospievania, sexuálne prenosných infekcií, súkromnej praxe, a kliník verejného zdravia, nemocníc, univerzít a pracovísk klinického výskumu. Z jednej lézie od každého subjektu sa odobrali dva (2) preparáty výteru: jeden sa odobral tampónom z komerčne dostupnej odberovej súpravy VTM a jeden sa odobral tampónom z odberovej súpravy Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit. Preparáty boli spracované v súlade s príslušnými pokynmi v príbalovom letáku a testované pomocou systému testovania typu ELVIS HSV ID a D³ vírusovej kultúry a validovaným obojsmerným postupom PCR/sekvenovania s cieľom stanoviť interpretáciu zloženej referenčnej metódy pre HSV-1 a HSV-2. Zvažovala sa interpretácia zloženej referenčnej metódy: A) pozitívne, ak vírusová kultúra systému testovania typu ELVIS HSV ID a D³ alebo PCR/sekvenovanie mali pozitívny výsledok pre typ HSV (HSV-1 alebo HSV-2) a B) negatívne, ak PCR/sekvenovanie malo negatívny výsledok pre jeden typ HSV a vírusová kultúra systému testovania typu ELVIS HSV ID a D³ mala negatívny výsledok (alebo pozitívny výsledok pre druhý typ HSV³). Preparáty boli testované rozborom schváleným FDA na HSV-1 a HSV-2, aby sa objasnil typ HSV, keď: A) PCR/sekvenovanie detegovalo HSV-1 aj HSV-2 a B) kombinované výsledky testov kompozitnej referenčnej metódy boli pozitívne pre oba typy HSV.

Klinický výkon rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-1 a HSV-2 sa hodnotil v preparátoch/ vzorkách odobratých z lézií v anogenitálnej a orálnej oblasti. Testovanie rozboru Aptima HSV 1 & 2 sa uskutočnilo v 3 externých laboratóriách. Vygenerovalo sa 108 cyklov rozboru Aptima HSV 1 & 2; 107 (99,1 %) cyklov bolo platných a 1 cyklus (0,9 %) bol neplatný z dôvodu chyby hardvéru. V platných cykloch rozboru Aptima HSV 1 & 2 bolo spracovaných 1 629 vzoriek; 1 628 (99,9 %) malo konečné platné výsledky a 1 (0,1 %) malo konečný neplatný výsledok v dôsledku chyby hardvéru (táto vzorka sa opätovne netestovala, pretože nemala dostatočný objem). Prvotné neplatné výsledky malo 7 vzoriek (0,4 %); z nich 6 bolo opätovne testovaných a ich výsledky boli platné.

Do analýz výkonu bolo možné zahrnúť 790 subjektov (285 mužov a 505 žien); 544 subjektov malo lézie v anogenitálnej oblasti a 246 subjektov malo lézie v orálnej oblasti.

Celkovo sa pri detekcii HSV-1 a HSV-2 v preparátoch odobratých z lézií v anogenitálnej oblasti citlivosť pohybovala od 93,4 % do 98,4 % a špecificita od 92,8 % do 99,8 % (Tabuľka 9 a Tabuľka 10).

1 Zahŕňa brucho, análny otvor, zadok, krčok maternice, predkožku, žalud' penisu/balanus, slabiny, mons pubis, penis (telo), peri-análnu oblasť, perineum, konečník, miešok, stehno, močovú trubicu/uretrálny otvor, vagínu, oblasť vulvy a iné.

2 Zahŕňa ďasná, pery, ústa, jazyk a iné.

3 Systém testovania typu ELVIS HSV ID a D³ nedokáže detegovať koinfikované preparáty. Pre HSV-1 možno typizovať len preparáty negatívne na HSV-2.

Tabuľka 9 uvádza citlivosť, špecificitu, pozitívnu predikčnú hodnotu (PPV) a negatívnu predikčnú hodnotu (NPV) rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-1 a prevalenciu HSV-1 (na základe zloženej referenčnej metódy) v anogenitálnych léziách pre každý typ preparátu.

Tabuľka 9: Klinická účinnosť rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-1 v anogenitálnych léziách podľa typu preparátu

Typ preparátu	Umiestnenie lézie	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Citlivosť % (95 % CI) ³	Špecificita % (95 % CI) ³	PPV % (95 % CI) ⁴	NPV % (95 % CI) ⁴
VTM	Anogenitálne	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)
	Mužské anogenitálne	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)
	Ženské anogenitálne	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)
Výter Aptima STM	Anogenitálne	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)
	Mužské anogenitálne	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)
	Ženské anogenitálne	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)

Výter Aptima STM = preparát výteru Aptima Multitest, Prev = prevalencia, VTM = vzorka VTM.

¹Dve (2) vzorky mali negatívne výsledky kultivácie a 1 mala netypovateľný výsledok pozitívnej kultivácie HSV.

²Jeden (1) preparát mal negatívny výsledok kultivácie a 1 mal netypizovateľný pozitívny výsledok kultivácie HSV.

³Skóre CI.

⁴PPV 95 % CI vypočítaná z presného 95 % CI pre pomer pravdepodobnosti pozitivity, NPV 95 % CI vypočítaná z presného 95 % CI z pomeru pravdepodobnosti negativity.

Tabuľka 10 uvádza citlivosť, špecificitu, PPV a NPV rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-2 a prevalenciu HSV-2 (na základe zloženej referenčnej metódy) v anogenitálnych léziách pre každý typ preparátu.

Tabuľka 10: Klinická účinnosť rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-2 v anogenitálnych léziách podľa typu preparátu

Typ preparátu	Umiestnenie lézie	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Citlivosť % (95 % CI) ³	Špecificita % (95 % CI) ³	PPV % (95 % CI) ⁴	NPV % (95 % CI) ⁴
VTM	Anogenitálne	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)
	Mužské anogenitálne	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)
	Ženské anogenitálne	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)
Výter Aptima STM	Anogenitálne	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)
	Mužské anogenitálne	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)
	Ženské anogenitálne	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)

Tabuľka 10: Klinická účinnosť rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-2 v anogenitálnych léziách podľa typu preparátu

Typ preparátu	Umiestnenie lézie	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Citlivosť % (95 % CI) ³	Špecifická % (95 % CI) ³	PPV % (95 % CI) ⁴	NPV % (95 % CI) ⁴
---------------	-------------------	---	----	----	----	----	----------	------------------------------------	-------------------------------------	------------------------------	------------------------------

Výter Aptima STM = preparát výteru Aptima Multitest, Prev = prevalencia, VTM = vzorka VTM.

¹Všetkých 8 vzoriek malo negatívne výsledky kultivácie.

²Všetky 4 preparáty mali negatívne výsledky kultivácie.

³Skóre CI.

⁴PPV 95 % CI vypočítaná z presného 95 % CI pre pomer pravdepodobnosti pozitIVITY, NPV 95 % CI vypočítaná z presného 95 % CI z pomeru pravdepodobnosti negativity.

Tabuľka 11 uvádza citlivosť, špecifickosť, PPV a NPV rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-1 a prevalenciu HSV-1 (na základe zloženej referenčnej metódy) v orálnych léziách pre každý typ preparátu. Citlivosť na detekciu HSV-1 v preparátoch/vzorkách odobratých v orálnej oblasti bola 97,5 % v preparátoch výteru Aptima Multitest a 81,5 % vo vzorkách VTM. Z 22 vzoriek VTM s falošne negatívnymi výsledkami na HSV-1 malo 19 vzoriek negatívne výsledky kultivácie. Špecifickosť na detekciu HSV-1 bola 88,7 % v preparátoch výteru Aptima Multitest a 99,2 % vo vzorkách VTM. Deväť (9) zo 14 preparátov výteru Aptima Multitest s falošne pozitívnymi výsledkami pochádzalo z 2 zo 17 odberných miest, ktoré odoberali preparáty z orálnej oblasti.

Tabuľka 11: Klinická účinnosť rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-1 v orálnych léziách podľa typu preparátu

Typ preparátu	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Citlivosť % (95 % CI) ³	Špecifická % (95 % CI) ³	PPV % (95 % CI) ⁴	NPV % (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)
Výter Aptima 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)

Výter Aptima STM = preparát výteru Aptima Multitest, Prev = prevalencia, VTM = vzorka VTM.

¹Deväť vzoriek malo negatívne výsledky kultivácie a 1 mala netypovateľný výsledok pozitívnej kultivácie HSV.

²Všetky 3 preparáty mali negatívne výsledky kultivácie.

³Skóre CI.

⁴PPV 95 % CI vypočítaná z presného 95 % CI pre pomer pravdepodobnosti pozitIVITY, NPV 95 % CI vypočítaná z presného 95 % CI z pomeru pravdepodobnosti negativity.

Keďže väčšinu infekcií HSV v ústnej dutine spôsobuje HSV-1, výskyt infekcií HSV-2 pozorovaných v ústnej dutine bol veľmi nízky (0,9 % až 1,3 %) (Tabuľka 12). Z 235 vzoriek VTM a 237 preparátov výteru Aptima Multitest mali iba 2 preparáty VTM a 3 preparáty výteru Aptima Multitest pozitívne výsledky na základe referenčného testovania. Citlivosť na detekciu HSV-2 v preparátoch/vzorkách odobratých v orálnej oblasti bola 66,7 % v preparátoch výteru Aptima Multitest a 100 % vo vzorkách VTM. Jeden preparát výteru Aptima Multitest odobraný z orálnej lézie s falošne negatívnym výsledkom mal negatívny výsledok kultivácie. Ako je opísané vyššie, analytická citlivosť detekcie HSV-2 pomocou umelých preparátov z ústnej dutiny bola 100 %. Špecifickosť na detekciu HSV-2 bola 100 % v preparátoch výteru Aptima Multitest a 100 % vo vzorkách VTM.

Tabuľka 12 uvádza citlivosť, špecificitu, PPV a NPV rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-2 a prevalenciu HSV-2 (na základe zloženej referenčnej metódy) v orálnych léziách pre každý typ preparátu.

Tabuľka 12: Klinická účinnosť rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-2 v orálnych léziách podľa typu preparátu

Typ preparátu	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Citlivosť % (95 % CI) ²	Špecificita % (95 % CI) ²	PPV % (95 % CI) ³	NPV % (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)
Výter Aptima 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)

Výter Aptima STM = preparát výteru Aptima Multitest, Prev = prevalencia, VTM = vzorka VTM.

¹Táto vzorka mala negatívny výsledok kultivácie.

²Skóre CI.

³PPV 95 % CI vypočítaná z presného 95 % CI pre pomer pravdepodobnosti pozitivity, NPV 95 % CI vypočítaná z presného 95 % CI z pomeru pravdepodobnosti negativity.

Referenčný rozsah a očakávané hodnoty

Prevalencia

Prevalencia HSV-1 a HSV-2 v rôznych populáciách závisí od rizikových faktorov pacienta, ako je vek, životný štýl a citlivosť testu pri detekcii infekcie. Zhrnutie prevalence HSV-1 a HSV-2 podľa typu preparátu a vekovej skupiny, stanovenej rozborom Aptima HSV 1 & 2 v štúdiu klinického výkonu, je uvedené v Tabuľka 13.

Tabuľka 13: Pozitivita rozboru Aptima HSV 1 & 2 podľa kategórie miesta lézie a vekovej skupiny¹

Umiestnenie lézie Veková skupina	% prevalencia (počet pozitívnych/počet testovaných)			
	Vzorka VTM		Sterové preparáty Aptima Multitest	
	HSV-1 pozitívny	HSV-2 pozitívny	HSV-1 pozitívny	HSV-2 pozitívny
Všetky miesta lézií				
Všetky vekové kategórie	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 rokov	30,8 (4/13)	0,0 (0/13)	50,0 (7/14)	0,0 (0/14)
12 až 21 rokov	21,5 (23/107)	40,2 (43/107)	24,8 (27/109)	42,2 (46/109)
22 až 30 rokov	18,9 (63/334)	36,8 (123/334)	21,4 (72/337)	39,5 (133/337)
31 až 40 rokov	20,7 (30/145)	33,8 (49/145)	27,3 (39/143)	35,7 (51/143)
41 až 50 rokov	22,7 (17/75)	26,7 (20/75)	25,7 (19/74)	28,4 (21/74)
51 až 60 rokov	30,9 (21/68)	22,1 (15/68)	37,7 (26/69)	24,6 (17/69)
> 60 rokov	32,3 (10/31)	22,6 (7/31)	35,5 (11/31)	25,8 (8/31)
Anogenitálne lézie				
Všetky vekové kategórie	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 rokov	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
12 až 21 rokov	20,7 (17/82)	52,4 (43/82)	20,2 (17/84)	54,8 (46/84)
22 až 30 rokov	14,2 (38/268)	45,5 (122/268)	14,4 (39/270)	48,9 (132/270)
31 až 40 rokov	11,5 (12/104)	47,1 (49/104)	12,6 (13/103)	49,5 (51/103)
41 až 50 rokov	9,1 (4, 44)	45,5 (20/44)	4,8 (2/42)	50,0 (21/42)
51 až 60 rokov	3,7 (1, 27)	51,9 (14/27)	7,1 (2/28)	57,1 (16/28)
> 60 rokov	0,0 (0/10)	70,0 (7/10)	0,0 (0/10)	80,0 (8/10)
Orálne lézie				
Všetky vekové kategórie	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 rokov	33,3 (4/12)	0,0 (0/12)	53,8 (7/13)	0,0 (0/13)
12 až 21 rokov	24,0 (6/25)	0,0 (0/25)	40,0 (10/25)	0,0 (0/25)
22 až 30 rokov	37,9 (25/66)	1,5 (1/66)	49,3 (33/67)	1,5 (1/67)
31 až 40 rokov	43,9 (18/41)	0,0 (0/41)	65,0 (26/40)	0,0 (0/40)
41 až 50 rokov	41,9 (13/31)	0,0 (0/31)	53,1 (17/32)	0,0 (0/32)
51 až 60 rokov	48,8 (20/41)	2,4 (1/41)	58,5 (24/41)	2,4 (1/41)
> 60 rokov	47,6 (10/21)	0,0 (0/21)	52,4 (11/21)	0,0 (0/21)

¹ Žiadny subjekt nemal pozitívne výsledky rozboru Aptima HSV 1 & 2 na HSV-1 aj HSV-2.

Pozitívne a negatívne prediktívne hodnoty pre hypotetickú prevalenciu

Odhadované pozitívne a negatívne prediktívne hodnoty (PPV a NPV) rozboru Aptima HSV 1 & 2 na detekciu HSV-1 a HSV-2 naprieč rôznymi mierami hypotetickej prevalencie sú uvedené pre každý typ preparátu v Tabuľka 14. Tieto výpočty sú založené na celkovej odhadovanej citlivosti a špecificite pre každý typ preparátu, určenej v štúdii klinického výkonu.

Tabuľka 14: Hypotetická PPV a NPV na detekciu HSV-1 a HSV-2 podľa typu preparátu a kategórie lokalizácie lézie

Typ preparátu	Umiestnenie lézie	Prevalencia (%)	HSV-1		HSV-2	
			PPV (%)	NPV (%)	PPV (%)	NPV (%)
Vzorka VTM	Anogenitálne	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
	Orálne	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
Výter Aptima STM	Anogenitálne	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
	Orálne	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

Výter Aptima STM = preparát výteru Aptima Multitest, VTM = vzorka VTM.

Rozdelenie TČas pre pozitívne kontroly rozboru Aptima HSV 1 & 2

Distribúcia hodnôt TČas pre pozitívnu kontrolu rozboru Aptima HSV 1 & 2 zo všetkých platných cyklov rozboru Aptima HSV 1 & 2 vykonaných počas štúdie klinického výkonu je uvedená v Tabuľka 15.

Tabuľka 15: Distribúcia TČasov pre rozbor Aptima HSV 1 & 2

Pozitívne kontroly

Štatistika	TČas	
	HSV-1	HSV-2
N	107	107
Priemer	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 = variačný koeficient; SD = štandardná odchýlka

Literatúra

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.

Kontaktné údaje a história revízií



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



Adresa austrálskeho zadávateľa:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



E-mailovú adresu a telefónne číslo na technickú podporu a zákaznícky servis pre konkrétnu krajinu nájdete na stránkach www.hologic.com/support.

Závažné udalosti, ktoré sa vyskytli v Európskej únii v súvislosti s pomôckou, sa musia hlásiť výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom používateľ a/alebo pacient sídli.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion a príslušné logá sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách.

Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov amerických, ktoré sú uvedené na stránkach www.hologic.com/patents.

©2016–2026 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-23071-3201 Rev. 002
2026-03

História revízií	Dátum	Opis
AW-23071-3201 Rev. 001	október 2022	- Vytvorený návod na použitie rozboru APTIMA HSV 1 & 2 AW-23071 Rev. 001 nahradí AW-15346 Rev. 005. Údaje pre súlad s IVDR (Ex-US a/alebo US) sú robustnejšie a bola vypracovaná nová PI, ktorá spĺňa požiadavky IVDR - Pridal sa Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu - Aktualizovaná časť Varovania a bezpečnostné opatrenia - Aktualizovaná časť pre požadované materiály, ktoré sú dostupné samostatne - Aktualizovaná časť systému Panther v rámci postupu testovania systému Panther - Odstránené a zodpovedajúcim spôsobom prečíslované predchádzajúce tabuľky 13 až 18 - Aktualizované kontaktné informácie vrátane: zástupcu pre ES, označenia CE, informácií o zástupcovi pre Austráliu a oddelenia technickej podpory. - Rôzne aktualizácie štýlu a formátovania

História revízií	Dátum	Opis
AW-23071-3201 Rev. 002	marec 2026	• Tabuľka nebezpečenstiev EÚ bola aktualizovaná o najnovšie výstražné hlásenia. • Do časti Upozornenia a bezpečnostné opatrenia boli pridané dve upozornenia. Jedno sa týka správnych laboratórnych postupov v oblasti molekulárnej biológie a monitorovania životného prostredia a druhé sa týka odmietnutia prepravných skúmaviek, ktoré neobsahujú výtery. • Pokyny pre skladovanie vzoriek po testovaní boli aktualizované tak, aby zahŕňali možnosť zakryť prepravnú skúmavku so vzorkou viečkom. Bola tiež pridaná poznámka týkajúca sa podmienok, ktoré môžu ovplyvniť schopnosť pipetovať viacero alikvót. • Bola aktualizovaná tabuľka Potrebne materiály, ktoré sú k dispozícii samostatne. • Aktualizovali sme pokyny v časti „Rekonštitúcia reagentov/príprava novej súpravy“. • Aktualizovali sme pokyny na manipuláciu so vzorkami, aby sme zvýšili počet samostatných alikvót z skúmavky so vzorkou na 5 a aby sme v niektorých situáciách povolili vortexovanie. • Aktualizovali sme pokyny na prípravu systému pre väčšiu prehľadnosť. • V časti „Interpretácia výsledkov“ sme doplnili, že ak sú výsledky testu vzorky neplatné druhýkrát, je potrebné odobrať novú vzorku. • Pre väčšiu prehľadnosť bol aktualizovaný názov časti „Umelé orálne HSV-2“ na „Výkonnosť HSV-2 v umelo pripravenej orálnej klinickej matrici“. • Rôzne aktualizácie štýlu, ochranných známk a formátovania.