

Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

Instrucciones de uso
Para su uso diagnóstico *in vitro*
Para exportación de EE. UU. solamente

Información general	2
Uso previsto	2
Resumen y explicación de la prueba	2
Principios del procedimiento	3
Resumen de seguridad y rendimiento	3
Advertencias y precauciones	4
Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos	6
Recogida y almacenamiento de muestras biológicas	6
Panther System	9
Reactivos y materiales suministrados	9
Material necesario que debe adquirirse por separado	10
Procedimiento de la prueba del Panther System	11
Notas de procedimiento	14
Control de calidad	16
Interpretación de la prueba	17
Limitaciones	18
Rendimiento del Panther System Analytical Assay	19
Medios de transporte de virus (MTV)	19
Sensibilidad analítica	19
Verificación del LDD	19
Coinfección	20
Reactividad cruzada	20
Interferencia	21
Reproducibilidad	22
Desempeño del VHS-2 en matriz clínica bucal artificial	24
Rendimiento del Panther System Clinical Assay	25
Rendimiento clínico	25
Rango de referencia y valores previstos	28
Bibliografía	32
Información de contacto e historial de revisiones	33

Información general

Uso previsto

El ensayo Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (ensayo Aptima HSV 1 & 2) es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* (NAAT) en tiempo real para la detección y diferenciación cualitativas de ARN mensajero (mRNA) del virus del herpes simple (VHS) de tipo 1 (VHS-1) y tipo 2 (VHS-2) en el sistema Panther™.

El ensayo puede utilizarse para el análisis de muestras de hisopo recogidas por un médico en lesiones cutáneas de la región anogenital o bucal, y colocadas en un medio de transporte de virus (MTV) o en un medio de transporte de muestras (MTM) Aptima. El ensayo se utilizará para facilitar el diagnóstico de las infecciones por HSV-1 o HSV-2 en hombres y mujeres sintomáticos.

El producto no está indicado para el uso con líquido cefalorraquídeo ni para el cribado prenatal.

Resumen y explicación de la prueba

Los virus del herpes simple de tipo 1 y 2 (VHS-1 y VHS-2) son virus de DNA de doble cadena que pertenecen a la subfamilia herpesvirus alfa. Aunque el VHS-1 y el VHS-2 están estrechamente relacionados, son genéticamente y serológicamente distintos (1). Durante el período 2005-2010, en los Estados Unidos la seroprevalencia del VHS-1 fue de 53,9 % y la del VHS-2 fue de 15,7 % (2).

El VHS-1 y el VHS-2 generalmente afectan a la piel escoriada o a la mucosa bucal o genital, causando lesiones dolorosas. Tras una primera fase sintomática, el virus desarrolla infecciones latentes en los ganglios nerviosos sensoriales, causando infecciones permanentes e incurables en humanos. Muchos episodios, tales como estrés físico o emocional, fiebre, luz ultravioleta, y daños tisulares, pueden ocasionar una reactivación vírica que da lugar a lesiones recurrentes o descamación asintomática (1,3).

Aunque el VHS-1 y el VHS-2 puede infectar la mucosa bucal y genital, el VHS-1 representa la mayoría de las infecciones no genitales. La infección genital por VHS es una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes en los Estados Unidos. Aunque el VHS-2 sigue siendo la causa más común del herpes genital, los últimos estudios sugieren un aumento en el herpes genital por VHS-1 (4). Las infecciones genitales por VHS pueden facilitar la adquisición y transmisión del VIH (5). Además, las mujeres embarazadas con infección genital primaria y tardía por VHS tienen un 50 % de probabilidad de transmitir el virus al feto y presentan un mayor riesgo de aborto espontáneo y parto prematuro (6).

Un alto porcentaje de las infecciones por VHS son asintomáticas y no reconocidas por el paciente o el médico (7). Un diagnóstico exacto de las infecciones por VHS mejora el asesoramiento, da lugar a un tratamiento eficaz y reduce la transmisión (4).

Históricamente, las infecciones por VHS se han diagnosticado mediante cultivos víricos seguido de tipado del VHS mediante inmunofluorescencia, que son procedimientos de laboratorio lentos y laboriosos. Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) han demostrado ser más sensibles que los métodos de cultivo y proporcionan un tiempo hasta el resultado mucho más corto (4).

El ensayo Aptima HSV 1 & 2 es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos desarrollada para su uso en el sistema automatizado Panther. Utiliza captura de diana, TMA y detección en tiempo real del VHS-1, VHS-2 y un control interno (CI). El ensayo Aptima HSV 1 & 2 amplifica y detecta los mRNA para el VHS-1 y VHS-2 (8). Estos RNA se expresan desde el genoma vírico durante el ciclo de infección, y se incluyen dentro de las partículas víricas del VHS-1 y el VHS-2 antes de la liberación del virus desde las células infectadas (9). Por lo tanto, el ensayo Aptima HSV 1 & 2 detecta las células infectadas por el virus y las propias partículas víricas maduras.

Principios del procedimiento

El ensayo Aptima HSV 1 & 2 implica tres pasos principales, que tienen lugar en un único tubo en el sistema Panther: captura de diana, amplificación seleccionada por TMA y detección de los productos de amplificación (amplicón) a través de sondas marcadas con fluorocromos. El ensayo utiliza un control interno (IC) con el fin de controlar la captura, amplificación y detección del ácido nucleico diana.

Las muestras se recogen o transfieren a un tubo que contiene un medio de transporte de muestras (MTM) que realiza el lisado de las células, libera el mRNA y lo protege frente a la degradación durante el almacenamiento. Cuando se procesa el ensayo Aptima HSV 1 & 2, el mRNA diana se aísla de la muestra mediante el uso de oligómeros de captura que están unidos a micropartículas magnéticas. Los oligómeros de captura contienen secuencias complementarias a regiones específicas de las moléculas diana del mRNA del VHS, así como una cadena de residuos de deoxiadenosina. Durante el paso de hibridación, las regiones específicas de la secuencia de los oligómeros de captura se unen a regiones específicas de la molécula diana del mRNA del VHS. El complejo oligómero de captura:diana se extrae de la solución mediante la reducción de la temperatura de la reacción hasta alcanzar la temperatura ambiente. Esta reducción de temperatura permite que se produzca la hibridación entre la región de la deoxiadenosina del oligómero de captura y las moléculas de polideoxitimidina que están unidas covalentemente a las partículas magnéticas. Las micropartículas, incluidas las moléculas diana del mRNA del VHS capturadas unidas a ellas, se desplazan al lateral del tubo de reacción utilizando imanes y se aspira el sobrenadante. Las partículas se lavan para eliminar residuos de la muestra que pueden contener inhibidores de amplificación.

Tras completar la captura de diana, el mRNA del VHS se amplifica a través de la TMA, que es un método de amplificación de ácidos nucleicos mediada por transcripción que utiliza dos enzimas: transcriptasa inversa de MMLV (virus de la leucemia murina de Moloney) y RNA polimerasa T7. La transcriptasa inversa se utiliza para generar una copia de DNA de la secuencia del mRNA diana, que contiene una secuencia promotora para la RNA polimerasa T7. La RNA polimerasa T7 genera varias copias del amplicón de RNA a partir del molde de copia de DNA.

La detección se lleva a cabo utilizando unas sondas fluorescentes de ácidos nucleicos monocatenarios que están presentes durante la amplificación de la diana y se hibridan específicamente con el amplicón a tiempo real. Cada sonda fluorescente tiene un fluoróforo y un inhibidor de fluorescencia. El inhibidor suprime la fluorescencia del fluoróforo, ya que está diseñado para estar muy cerca cuando no se hibrida con el amplicón. Cuando la sonda fluorescente se une al amplicón, el inhibidor se aleja del fluoróforo y emite una señal a una longitud de onda específica cuando es excitado por una fuente luminosa. Más sondas de fluorescencia se hibridan en presencia de más amplicones. El aumento en la señal fluorescente de la amplificación progresiva se detecta por fluorómetros en el interior del sistema Panther. El sistema Panther puede detectar y diferenciar entre las tres señales fluorescentes correspondientes a VHS-1, VHS-2 y los productos de amplificación del control interno. La fluorescencia (medida en unidades de fluorescencia relativa [RFU]) se controla a lo largo del tiempo para producir una curva de aparición de la fluorescencia en tiempo real para cada señal fluorescente. El software del sistema Panther compara las curvas de aparición de la fluorescencia con los tiempos límite fijados para notificar los resultados (TiempoT) para el VHS-1, VHS-2 y el control interno.

Resumen de seguridad y rendimiento

El resumen de seguridad y rendimiento (SSP, por sus siglas en inglés) está disponible en la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed), donde está vinculado a los identificadores de dispositivos (UDI-DI básico). Para localizar el SSP del ensayo Aptima Herpes Simplex Viruses 1&2, consulte el identificador único del producto básico (BUDI): **54200455DIAGAPTHSV12S7**.

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profesional.
- C. Para reducir el riesgo de obtener resultados no válidos, lea atentamente el prospecto completo y el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System* antes de realizar este ensayo.

Información para los laboratorios

- D. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- E. Tome las precauciones habituales del laboratorio. No pipetee con la boca. No coma, beba ni fume en las zonas de trabajo designadas. Utilice guantes desechables sin talco, protección para los ojos y batas de laboratorio al manipular las muestras y los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- F. Las superficies de trabajo, pipetas y otros equipos se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M).
- G. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la normativa local, nacional e internacional (10, 11, 12, 13). Limpie a fondo y desinfecte todas las superficies de trabajo.
- H. Siga las buenas prácticas de los laboratorios moleculares, incluido el monitoreo ambiental.

Información para las muestras

- I. Las fechas de caducidad de los kits de transporte de muestras hacen referencia a la recogida/transferencia de las muestras y no a los análisis de las muestras. Las muestras recogidas/transferidas en cualquier momento antes de estas fechas de caducidad son válidas para las pruebas siempre que hayan sido transportadas y almacenadas de acuerdo con el prospecto, incluso si la fecha de caducidad indicada en el tubo de transferencia ha vencido.
- J. Las muestras pueden ser infecciosas. Adopte las precauciones universales (10, 11, 12) al realizar este ensayo. Deben establecerse métodos de manipulación y eliminación adecuados según la normativa local (13). Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del ensayo Aptima HSV 1 & 2 y en la manipulación de material infeccioso.
- K. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar su integridad. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- L. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles al aflojar o destapar los tubos de muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de organismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto unos con otros y deseche los materiales usados sin pasarlos por encima de los recipientes abiertos. Cámbiese los guantes si entran en contacto con la muestra.
- M. Una vez realizada la perforación, el líquido puede salirse de los tapones de los tubos de transporte Aptima bajo determinadas condiciones. Consulte el *Procedimiento de ensayo* correspondiente para obtener más información.
- N. Si el laboratorio recibe un tubo de recogida de muestras de hisopo multitest Aptima™ sin ningún hisopo, 2 hisopos o un hisopo no suministrado por Hologic, la muestra debe rechazarse. Antes de rechazar un tubo de transporte con hisopo sin hisopo, verifique que no sea un tubo de transferencia de muestras Aptima, ya que este tubo de transporte de muestras no contiene un hisopo.

Información sobre los ensayos

- O. No intercambie, no mezcle ni combine reactivos de ensayo de kits con números de lotes maestros diferentes. Los controles y los fluidos de ensayo pueden intercambiarse.
- P. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.
- Q. Tape y conserve todos los reactivos del ensayo a las temperaturas indicadas. El uso de reactivos conservados incorrectamente puede afectar a la eficacia del ensayo. Consulte *Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos y Procedimiento de la prueba del Panther System* para obtener más información.
- R. No combine ningún reactivo ni líquido del ensayo sin instrucciones específicas. No llene hasta arriba los frascos de reactivos o líquidos. El sistema Panther verifica los niveles de reactivo.
- S. Algunos reactivos de este kit están etiquetados con símbolos de riesgo y seguridad.

Nota: La comunicación sobre peligros refleja las clasificaciones de las fichas de seguridad (SDS) de la UE. Para ver la ficha de seguridad específica de su país, consulte la Biblioteca de fichas de datos de seguridad (SDS) en www.hologicsds.com. Para obtener más información sobre los símbolos, consulte la leyenda de los símbolos en <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Información sobre riesgos en la UE.	
—	Enzyme Reagent HEPES AL 1-5 % TRITON X-100 AL 1-5 % H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	Enzyme Reconstitution Solution GLICERINA AL 20-25 % TRITON X-100 AL 5-10 % HEPES AL 1-5 % H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	Promoter Reagent CLORURO DE MAGNESIO (MgCL2) AL 60-65 % H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	Target Capture Reagent HEPES AL 5-10 % ACIDO ETILENDIAMINOTETRAACETICO AL 1-5 % LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE AL 1-5 % H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	Amplification Reagent CLORURO DE MAGNESIO (MgCL2) AL 60-65 % H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.

Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos

- A. La tabla siguiente muestra las condiciones de conservación y la estabilidad de los reactivos y los controles.

Reactivo	Almacenamiento del reactivo cerrado	Kit abierto (reconstituido)	
		Almacenamiento	Estabilidad
Reactivo de amplificación	Entre 2 °C y 8 °C		
Solución de reconstitución de amplificación	Entre 15 °C y 30 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días ¹
Reactivo enzimático	Entre 2 °C y 8 °C		
Solución de reconstitución enzimática	Entre 15 °C y 30 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días ¹
Reactivo promotor	Entre 2 °C y 8 °C		
Solución de reconstitución de promotor	Entre 15 °C y 30 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días ¹
Reactivo de captura seleccionada	Entre 15 °C y 30 °C	Entre 15 °C y 30 °C ²	30 días ¹
Control negativo	Entre 2 °C y 8 °C		Vial de un solo uso
Control positivo	Entre 2 °C y 8 °C		Vial de un solo uso
Control interno	Entre 2 °C y 8 °C		Vial de un solo uso

¹ Al retirar los reactivos del sistema Panther, se deben volver a guardar inmediatamente a sus temperaturas de conservación adecuadas.

² Condiciones de almacenamiento para el reactivo de captura de diana en uso (reactivo de captura de diana en uso con control interno agregado).

- B. Deseche todos los reactivos reconstituidos no utilizados y el reactivo de captura de diana en uso (wTCR) de trabajo después de 30 días o de la fecha de caducidad del lote maestro, lo que ocurra primero.
- C. Los reactivos almacenados en el sistema Panther tienen 120 horas de estabilidad en el instrumento.
- D. Los controles son estables hasta la fecha indicada en los viales.
- E.  Tanto el reactivo promotor como el reactivo promotor reconstituido son fotosensibles. Proteja estos reactivos de la luz durante la conservación y la preparación para el uso.
- F. Evite la contaminación cruzada durante el almacenamiento y la manipulación del reactivo. Coloque tapones nuevos en todos los reactivos reconstituidos antes de su almacenamiento.
- G. **No congele los reactivos.**

Recogida y almacenamiento de muestras biológicas

Nota: Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes posiblemente infecciosos. Respete las precauciones universales.

Nota: Tenga cuidado para evitar la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Por ejemplo, deseche el material usado sin hacerlo pasar sobre tubos abiertos.

Es posible utilizar muestras de hisopo recogidas por un médico en lesiones anogenitales o bucales colocadas en medio de transporte de muestras (MTM) o en medio de transporte de virus (MTV).

Las muestras de lesiones pueden recogerse utilizando cualquiera de los dos métodos siguientes:

- Kit de recolección de muestras de hisopo multitest Aptima™ (para MTM)
- Kit de recogida de MTV disponible comercialmente (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4, and Remel M5)

A. Instrucciones de recogida

Consulte el prospecto del paquete del kit de recolección de muestras correspondiente para obtener instrucciones de recogida específicas (Kit de recolección de muestras de hisopo multitest Aptima, para muestras recogidas en STM, o Kit de transferencia de muestras Aptima™, para muestras recogidas en VTM).

B. Transporte y almacenamiento de muestras antes de la prueba

1. Muestras de hisopo recogidas en el kit de recolección de muestras de hisopo multitest Aptima
 - a. Transporte y almacene la muestra en el tubo de transporte de muestras de hisopo Aptima entre 2 °C y 30 °C hasta 60 días después de la recogida.
 - b. Si es necesario un período de almacenamiento más largo, guarde las muestras a una temperatura igual o inferior a –20 °C hasta 90 días después de la recogida.
2. Muestras de hisopo recogidas en el kit de recogida de MTV.
 - a. Transporte y almacene la muestra en el tubo de MTV entre 2 °C y 8 °C hasta 3 días después de la recogida.
 - b. Antes de realizar el análisis con el Aptima HSV 1 & 2, las muestras recogidas en MTV deben transferirse al tubo de transferencia desde el kit de transferencia de muestras Aptima que contiene 2,9 mL de MTM, según las instrucciones que se indican a continuación.
 - c. Preparación del área de transferencia de muestras
 - i. Póngase guantes limpios sin polvo.
 - ii. Limpie las superficies de trabajo y las pipetas con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 %-3,5 % (0,35 M-0,5 M).
 - iii. Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies de trabajo y las pipetas por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua destilada. Seque las superficies con toallitas de papel limpias.
 - iv. Cubra la mesa con un papel absorbente plastificado limpio para mesas de laboratorio.
 - v. En el área de transferencia de muestras, coloque una gradilla que tenga una cantidad suficiente de tubos de transferencia de muestras Aptima y que corresponda al número de muestras de MTV que se estén analizando.
 - vi. Etiquete cada tubo de transferencia de muestras Aptima con el número de identificación o ID de muestra.
 - d. Procedimiento de transferencia de muestras
 - i. Para reducir el riesgo de contaminar otras muestra, trabaje con una muestra de MTV cada vez.
 - ii. Póngase guantes limpios sin polvo y coloque las muestras que vaya a analizar en el área de transferencia de muestras.
 - iii. Obtenga 1 muestra de MTV. Destape el tubo de transferencia de muestras Aptima correspondiente; coloque la tapa sobre la mesa con la tapa hacia arriba.
 - iv. Agite con un mezclador vórtex la muestra de MTV de 3 a 10 segundos. Destape el tubo y coloque el tapón sobre la mesa con la tapa hacia arriba.
 - v. Tras 1 minuto de agitación, pipetee 0,5 mL de la muestra de MTV en el tubo de transferencia de muestras Aptima desde el kit de transferencia de muestras Aptima que contiene 2,9 mL de MTM.

- vi. Deseche la punta de pipeta en un contenedor que contenga una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 %.
 - vii. Enrosque firmemente el tapón del tubo de transferencia de muestras Aptima. Invierta moderadamente el tubo de 2 a 3 veces para garantizar la mezcla total del espécimen.
 - viii. Coloque el tapón al tubo que contiene la muestra de MTV restante y guárdela a una temperatura inferior o igual a -70°C si se desea.
 - ix. Repita los pasos del iii al viii para transferir las muestras posteriores. Cámbiese los guantes sin polvo a menudo, en especial si entran en contacto con la muestra.
 - e. Después de la transferencia a un tubo de transferencia de muestras Aptima, las muestras pueden transportarse y almacenarse entre 2°C y 30°C hasta 30 días.
 - f. Si es necesario un período de almacenamiento más largo, congele la muestra de MTV en el tubo de transferencia de muestras Aptima a una temperatura inferior o igual a -20°C durante un período máximo de 90 días.
- C. Almacenamiento de muestras después de la prueba
- 1. Las muestras analizadas deben almacenarse boca arriba en una gradilla.
 - 2. Los tubos de muestras deben cubrirse con una película plástica nueva y limpia, una barrera de aluminio o una tapa.

Nota: *Cualquier condición que provoque la pérdida o evaporación del medio durante el transporte, la manipulación o el almacenamiento puede afectar la capacidad de pipetear múltiples alícuotas.*

- 3. Si es necesario congelar o enviar las muestras analizadas, sustituya los tapones penetrables de los tubos de transporte de muestras por tapones nuevos no perforables. Si es necesario enviar las muestras para su análisis a otro laboratorio, se deben mantener las temperaturas recomendadas.
- 4. Antes de destapar las muestras anteriormente analizadas y tapadas, se deben centrifugar los tubos de transporte de muestras durante 5 minutos a una fuerza centrífuga relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) de 420 para llevar todo el líquido al fondo del tubo.

Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.

Nota: *las muestras deben enviarse respetando las normativas de transporte regional, nacional e internacional aplicables.*

Panther System

Los reactivos del ensayo Aptima HSV 1 & 2 para uso con el sistema Panther se indican a continuación. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Kit del Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

100 pruebas (2 cajas de ensayos y 1 kit de controles), N.º de catálogo PRD-03568

Los controles pueden adquirirse por separado. Consulte el número de catálogo individual a continuación.

Caja refrigerada del Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (almacenar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
A	Reactivo de amplificación <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón.</i>	1 vial
E	Reactivo enzimático <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa desecadas en solución de tampón HEPES.</i>	1 vial
PRO	Reactivo promotor <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón.</i>	1 vial
IC	Control interno <i>Ácidos nucleicos no infecciosos en solución de tampón.</i>	1 x 0,3 mL

Caja a temperatura ambiente del Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (almacenar entre 15 °C y 30 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
AR	Solución de reconstitución de amplificación <i>Solución acuosa con glicerol y conservantes.</i>	1 x 7,2 mL
ER	Solución de reconstitución enzimática <i>Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	Solución de reconstitución de promotor <i>Solución acuosa con glicerol y conservantes.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	Reactivo de captura seleccionada <i>Ácidos nucleicos en una solución salina de tampón con fase sólida y ácidos nucleicos no infecciosos.</i>	1 x 26,0 mL
	Collares de reconstitución	3
	Hoja de códigos de barras de lote maestro	1 hoja

Kit de controles del Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2. (N.º de catálogo PRD-03569)
(almacenar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
CONTROL –	Control negativo <i>Solución de tampón.</i>	5 x 2,7 mL
CONTROL +	Control positivo <i>Ácidos nucleicos no infecciosos en solución de tampón.</i>	5 x 1,7 mL
	Hoja de código de barras de los controles	1 hoja

Material necesario que debe adquirirse por separado

Nota: Los materiales con los números de catálogo indicados pueden adquirirse en Hologic, a menos que se especifique lo contrario.

Material	N.º de catálogo
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Líquidos y residuos continuos del Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de ciclo del Panther System para ensayos en tiempo real (sólo para ensayos en tiempo real)	PRD-03455 (5000 pruebas)
<i>Kit de fluidos del ensayo Aptima™ (también denominado Kit de fluidos universales) contiene solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima</i>	303014 (1000 pruebas)
Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)	104772-02
Juego de bolsas de desechos Panther	902731
Tapa del recipiente de desechos Panther	504405
O kit de ciclo del Panther <i>(cuando se procesan ensayos TMA a punto final junto con ensayos TMA en Tiempo Real) contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos, auto detect y fluidos del ensayo</i>	303096 (5000 pruebas)
Kit de fluidos del ensayo Aptima <i>contiene solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima</i>	303014 (1000 pruebas)
Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)	104772-02
Puntas, 1000 µL con filtros, conductoras, detectoras de líquido y desechables	901121 (10612513 Tecan)
<i>No todos los productos están disponibles en todas las zonas. Póngase en contacto con su representante para obtener información específica para su zona</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Kit de transferencia de muestras Aptima <i>para utilizar con muestras recogidas en MTV</i>	301154C
Kit de transferencia de muestras Aptima (imprimible) <i>para utilizar con muestras recogidas en MTV</i>	PRD-05110
Kit de recolección de muestras de hisopo multitest Aptima	PRD-03546

Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5,0 % al 8,25 % (de 0,7 M a 1,16 M)	—
Guantes desechables sin talco	—
Tapones perforables Aptima	105668
Tapones no penetrables de repuesto	103036A
Tapones de repuesto para reactivos	—
<i>Soluciones para reconstitución de reactivos de amplificación, enzimático y promotor</i>	
<i>CL0041 (100 tapones)</i>	
<i>TCR</i>	<i>501604 (100 tapones)</i>
Cubiertas de bancos de laboratorio con revestimiento de plástico	—
Paños sin pelusa	—
Pipeteador	—
Puntas	—
Mezclador vórtex	—
Centrífuga	—

Materiales opcionales**N.º de catálogo**

Potenciador de lejía Hologic para limpieza, <i>para la limpieza rutinaria de superficies y equipos</i>	302101
Balancín para tubos	—

Procedimiento de la prueba del Panther System

Nota: Consulte el Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System para obtener más información sobre los procedimientos del Panther System.

A. Preparación del área de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo donde se prepararán los reactivos. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 %-3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua desionizada (DI). No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa de trabajo con cubiertas absorbentes limpias para mesas de laboratorio con respaldo plástico.
2. Limpie una superficie de trabajo aparte para preparar las muestras. Utilice el procedimiento descrito más arriba (paso A.1).
3. Limpie todos los pipeteadores. Utilice el procedimiento de limpieza descrito más arriba (paso A.1).

B. Reconstitución y preparación de reactivos de un nuevo kit

Nota: La reconstitución de reactivos debe realizarse antes de iniciar cualquier tarea con el sistema Panther.

1. Antes del análisis, los reactivos de amplificación, enzimático y promotor deben reconstituirse combinando el contenido de las botellas de reactivo liofilizado con la solución de reconstitución adecuada.
 - a. Deje que los reactivos liofilizados alcancen la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de utilizarlos.

- b. Empareje cada solución de reconstitución con su reactivo liofilizado. Antes de fijar el anillo de reconstitución, asegúrese de que los símbolos de las etiquetas de la solución de reconstitución y del reactivo sean iguales.
- c. Compruebe los números de lote en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados. Etiquete las tapas de los frascos de solución de reconstitución.
- d. Abra el vial de vidrio del reactivo liofilizado e inserte con firmeza el extremo ranurado del collar de reconstitución en la abertura del vial de vidrio (Figura 1, paso 1).
- e. Abra la botella de la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
- f. Mientras sostiene el frasco con la solución de reconstitución sobre la mesa, inserte con firmeza el otro extremo del collar de reconstitución en la abertura del frasco de solución de reconstitución (Figura 1, paso 2).
- g. Invierta lentamente el conjunto de los frascos. Deje que la solución pase del frasco de solución de reconstitución al vial de vidrio (Figura 1, paso 3).
- h. Agite con una rotación suave la solución del frasco para mezclarla. Evite que se forme espuma al agitar el frasco (Figura 1, paso 4).
- i. Espere como mínimo 15 minutos a que el reactivo liofilizado pase a la solución y luego invierta de nuevo el conjunto de los frascos, inclinándolo a un ángulo de 45° para reducir al mínimo la formación de espuma (Figura 1, paso 5). Deje que todo el líquido regrese a la botella de solución de reconstitución.
- j. Retire el collar de reconstitución y el vial de vidrio (Figura 1, paso 6).
- k. Tape el frasco de plástico con la tapa etiquetada guardada que corresponda al reactivo o con una tapa nueva. No intercambie las tapas. Registre las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (Figura 1, paso 7).
- l. Deseche el collar de reconstitución y el vial de vidrio (Figura 1, paso 8).

Opción: se admite el mezclado adicional de los reactivos de amplificación, enzima y promotor utilizando un balancín para tubos. Los reactivos pueden mezclarse disponiendo el frasco de plástico que se ha vuelto a tapar en un balancín para tubos configurado a 20 RPM (o equivalente) durante un mínimo de 5 minutos.

Advertencia: Evite que se forme espuma al reconstituir los reactivos. La espuma afecta a la detección del nivel en el sistema Panther.

Advertencia: Es necesario mezclar adecuadamente los reactivos para lograr los resultados esperados del ensayo.

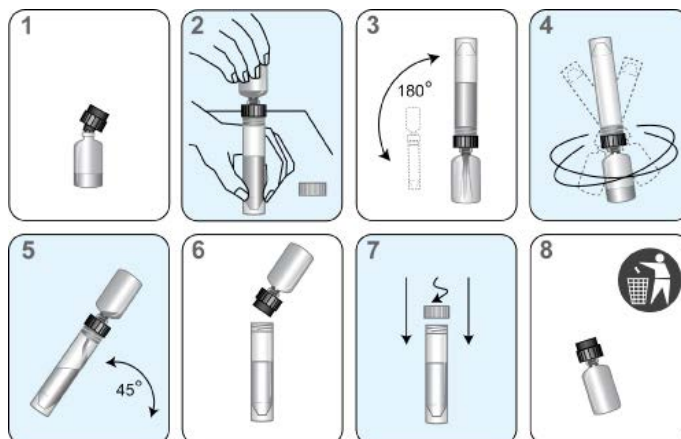


Figura 1. Proceso de reconstitución de reactivos

2. Prepare el reactivo de captura seleccionada de trabajo (Working Target Capture Reagent, wTCR)
 - a. Empareje los frascos apropiados de TCR e IC.
 - b. Compruebe los números de lote de los reactivos en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados en el kit.
 - c. Abra el frasco de TCR y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - d. Abra el frasco de IC y vierta todo su contenido en el frasco de TCR. Es normal que quede una pequeña cantidad de líquido en el frasco de IC.
 - e. Tape el frasco y agite con una rotación suave la solución para mezclar el contenido. Evite que se forme espuma durante este paso.
 - f. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.
 - g. Deseche el frasco de IC y el tapón.
- C. Preparación de los reactivos previamente reconstituidos
 1. Los reactivos de amplificación enzimático y promotor previamente reconstituidos deben alcanzar la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de que se inicie el ensayo.

Opción: se admite el mezclado adicional de los reactivos de amplificación, enzima y promotor utilizando un balancín para tubos. Los reactivos pueden mezclarse disponiendo el frasco de plástico que se ha vuelto a tapar en un balancín para tubos configurado a 20 RPM (o equivalente) durante un mínimo de 25 minutos.
 2. Si el wTCR contiene precipitado, caliente el wTCR entre 42 °C y 60 °C durante 90 minutos como máximo. Deje que el wTCR se equilibre a temperatura ambiente antes del uso. No lo utilice si aún hay precipitado.
 3. Verifique que los reactivos no hayan excedido sus tiempos de estabilidad de almacenamiento, incluida la estabilidad en el instrumento.
 4. Mezcle bien cada reactivo mediante inversión suave antes de cargarlo en el sistema. Evite que se forme demasiada espuma al invertir los reactivos. Este paso puede omitirse si los reactivos se cargan en el sistema directamente tras realizar la mezcla en el balancín para tubos.

5. No rellene los frascos de reactivo. El sistema Panther reconocerá y rechazará los frascos que se hayan rellenado.

Advertencia: es necesario que la mezcla de los reactivos sea adecuada para conseguir los resultados del ensayo previstos.

D. Manipulación de muestras

1. Verifique visualmente que cada tubo de muestra cumpla con uno de los siguientes criterios:
 - a. La presencia de un único hisopo rosa de recolección Aptima en el tubo de recolección de muestras con hisopo Aptima Multitest.
 - b. La ausencia de un hisopo en el tubo de transferencia de muestras Aptima para muestras VTM.
2. Permita que los controles y las muestras alcancen la temperatura ambiente antes del procesamiento.

Nota: Antes de las pruebas y/o para resolver resultados inválidos presuntamente relacionados con la muestra, las muestras pueden mezclarse con vórtex a alta velocidad durante un mínimo de 3 minutos, seguido de una mezcla a baja velocidad durante 1 minuto (para hacer descender el líquido dentro del tubo).

3. Inspeccione los tubos de muestras antes de cargarlos en la gradilla:
 - a. Si un tubo de muestras contiene burbujas en el espacio entre el líquido y el tapón, centrifugue el tubo durante 5 minutos con una RCF de 420 para eliminar las burbujas.
 - b. Si un tubo de muestras tiene un volumen inferior al que se suele observar cuando se siguen las instrucciones de recogida, centrifúguelo durante 5 minutos a una RCF de 420 para asegurarse de que no quede líquido en el tapón.

Nota: Una incorrecta realización de los pasos 3a-3b puede provocar que se quede un remanente de líquido en el tapón del tubo de muestras.

Nota: Se pueden analizar hasta 5 alícuotas independientes de cada tubo de muestras. Los intentos de pipetear más de 5 alícuotas del tubo de muestras pueden dar lugar a errores de procesamiento.

E. Preparación del sistema

1. Prepare el sistema de acuerdo con las instrucciones del *Manual del usuario del Panther/ Panther Fusion System* y las *Notas de procedimiento*.

Nota: Asegúrese de que se utilicen las gradillas para reactivos y los adaptadores de TCR del tamaño adecuado.

2. Cargue las muestras.

Notas de procedimiento

A. Controles

1. Los tubos de control positivo y de control negativo pueden cargarse en cualquier posición de la gradilla o en cualquier carril del compartimento de muestras en el sistema Panther. El pipeteo de las muestras comenzará cuando se cumpla 1 de las dos condiciones siguientes:
 - a. El sistema esté procesando actualmente los controles.
 - b. Los resultados válidos para los controles se registran en el sistema.

2. Una vez que los tubos de controles se hayan pipeteado y se estén procesando para un kit de reactivos específico, las muestras de paciente pueden analizarse con el kit asociado hasta 24 horas **a menos que:**
 - a. Los resultados de control no sean válidos.
 - b. Se retire del sistema el kit de reactivos del ensayo asociado.
 - c. El kit de reactivos de ensayo asociado ha excedido los límites de estabilidad.
 3. Cada tubo de control se puede analizar una vez. Los intentos de pipetear más de una vez del tubo pueden dar lugar a errores de procesamiento.
- B. Temperatura
- La temperatura ambiente se define como de 15 °C a 30 °C.
- C. Talco de guantes
- Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de talco en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin talco.

Control de calidad

A. Criterios de validez del ciclo

El software determina automáticamente la validez del ciclo. El software invalidará un ciclo si uno o ambos controles (negativo y positivo) tienen resultados no válidos.

Un usuario puede invalidar un ciclo si observan y documentan dificultades técnicas o relacionadas con el usuario o el instrumento durante la realización del ensayo.

Debe repetirse un ciclo no válido.

B. Validez del control

Tabla 1 define los criterios de validez de TiempoT para los controles negativo y positivo.

Tabla 1: Criterios de validez de TiempoT

	TiempoT CI	TiempoT de VHS-1	TiempoT de VHS-2
Control negativo	$\geq 7,0$ y $\leq 40,0$	-	-
Control positivo	$\geq 7,0$ y $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ y $\leq 35,0$	$\geq 3,0$ y $\leq 35,0$

Nota: Las muestras de control de calidad externas (no suministradas) deben analizarse en conformidad con las normativas locales, regionales o nacionales o con los requisitos de acreditación, además de con los procedimientos estándar de control de calidad de cada laboratorio.

Nota: Para obtener ayuda con los controles fuera de rango, póngase en contacto con la Asistencia técnica de Hologic.

Nota: Cuando no se pueda calcular el TiempoT, se mostrará un guión (-).

Interpretación de la prueba

El software de análisis determina automáticamente los resultados de la prueba. Los resultados de la detección del VHS-1 y del VHS-2 se notifican por separado. La Tabla 2 muestra los posibles resultados notificados en un ciclo válido y las interpretaciones de los resultados. El primer resultado válido es el resultado que debe informarse. Las muestras con resultados de prueba inválidos deben volver a analizarse. Si el resultado es inválido nuevamente tras la repetición de la prueba, debe recolectarse una nueva muestra.

Tabla 2: Interpretación de los resultados

Resultado de VHS-1	Resultado de VHS-2	Interpretación
VHS-1 neg	VHS-2 neg	Negativo: No se ha detectado mRNA de VHS-1 o VHS-2
VHS-1 neg	VHS-2 POS	Positivos para VHS-2: Se ha detectado mRNA de VHS-2
VHS-1 POS	VHS-2 neg	Positivos para VHS-1: Se ha detectado mRNA de VHS-1
VHS-1 POS	VHS-2 POS	Positivos para el VHS-1 y VHS-2: Se ha detectado mRNA de VHS-1 y VHS-2
No válido	No válido	No válido: Hubo un error en la generación del resultado. Es necesario volver a analizar la muestra.

La Tabla 3 muestra el criterio TiempoT para determinar el resultado de una muestra específica. Una prueba también puede ser no válida debido a otros parámetros fuera de los rangos normales esperados.

Tabla 3: Criterios de TiempoT

	TiempoT CI	TiempoT de VHS-1	TiempoT de VHS-2
Negativo	$\geq 7,0$ y $\leq 45,0$	-	-
VHS-1 positivo	- o $\geq 7,0$ y $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ y $\leq 53,0$	-
VHS-2 negativo			
VHS-1 negativo	- o $\geq 7,0$ y $\leq 53,0$	-	$\geq 3,0$ y $\leq 53,0$
VHS-2 positivo			
VHS-1 positivo	- o $\geq 7,0$ y $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ y $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ y $\leq 53,0$
VHS-2 positivo			
No válido	-	-	-

Nota: Cuando no se pueda calcular el TiempoT, se mostrará un guión (-).

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la debida formación para realizar el procedimiento. El incumplimiento de las instrucciones indicadas en este prospecto puede producir resultados equívocos.
- B. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras.
- C. El producto no está indicado para el uso con líquido cefalorraquídeo ni para el cribado prenatal.
- D. Los resultados del ensayo Aptima HSV 1 & 2 deben interpretarse junto con otros datos clínicos a disposición del médico.
- E. Un resultado negativo del ensayo Aptima HSV 1 & 2 no descarta una posible infección porque los resultados dependen de la recogida adecuada de muestras. Los resultados del ensayo pueden verse afectados por la recogida incorrecta de muestras, errores técnicos, fase clínica de la lesión de la que se obtuvo la muestra o niveles objetivo por debajo del límite de detección del ensayo.

Rendimiento del Panther System Analytical Assay

Medios de transporte de virus (MTV)

El rendimiento del ensayo Aptima HSV 1 & 2 se evaluó con los tipos de MTV utilizados frecuentemente (Medio de Transporte de Virus Universal BD/Transporte Universal Copan, Remel M4RT, Remel M4 y Remel M5). Cada medio se enriqueció por separado con partículas víricas de cepa MacIntyre del VHS-1 o MS del VHS-2, tres veces por encima del límite de detección (LDD). Posteriormente, cada panel se transfirió según las instrucciones indicadas en el prospecto del MTM. Para evaluar la posible interferencia de diferentes tipos de MTV, los paneles (sin enriquecer) negativos al VHS también se diluyeron en MTM y se analizaron en 40 réplicas por panel. Todos los paneles negativos fueron 100 % válidos y negativos, y todos los paneles enriquecidos de VHS-1 o VHS-2 fueron 100 % positivos para el tipo de VHS correspondiente.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica/LDD del Aptima HSV 1 & 2 Assay se determinó analizando una serie de paneles formados por virus VHS-1 o VHS-2 diluidos en muestras clínicas negativas combinadas, en MTM y MTV diluidos en matrices de MTM. Para VHS-1, se analizaron las cepas víricas MacIntyre y HF. Para VHS-2, se analizaron las cepas MS y G. Se analizaron al menos 60 réplicas en cada concentración para cada muestra del panel y para cada matriz y cepa vírica en 3 lotes de reactivos.

Se realizó previamente un análisis de regresión probit para proporcionar el límite de detección previsto del 95 % para cada cepa de VHS en cada matriz de cada lote. El LDD se determinó como la concentración a la que se obtiene una positividad de las réplicas igual o superior al 95 %, según el cálculo más alto entre los 3 lotes de reactivos.

Tabla 4: LDD del VHS 1 y 2 en MTM y MTV

Tipo/cepa del VHS	Tipo de muestra	1 x LDD
		DICT50/mL (95 % de confianza)
VHS-1 MacIntyre	MTM	60,6 (37,9-143,2)
	MTV	186,9 (148,1-266,5)
VHS -1 HF	MTM	78,9 (47,7-195,3)
	MTV	159,3 (98,3-326,7)
VHS-2 MS	MTM	18,2 (10,7-46,1)
	MTV	28,7 (15,6-105,6)
VHS-2 G	MTM	18,8 (13,2-36,4)
	MTV	128,8 (57,8-584,2)

Verificación del LDD

El LDD se verificó a través de 2 muestras clínicas aisladas de VHS-1 y 2 muestras clínicas aisladas de VHS-2, que se aislaron de muestras clínicas positivas al VHS y cuyo cultivo y cuantificación se realizó internamente. Cada muestra aislada se analizó con el ensayo Aptima HSV 1 & 2 con 60 réplicas sobre el LDD, 3 veces el LDD y 10 veces el LDD. El análisis se completó en matrices de MTM y MTV para las 4 muestras clínicas aisladas y se realizó con 3 lotes de reactivos. Se utilizó el ensayo Aptima HSV 1 & 2 para la detección de todas las réplicas de todas las muestras clínicas aisladas en las 3 concentraciones analizadas, y se demostró que el ensayo podía detectar con precisión un conjunto de muestras clínicas aisladas del VHS-1 y VHS-2 al LDD determinado.

Coinfección

Se crearon paneles con partículas víricas del VHS-1 a 3 veces el LDD y el virus VHS-2 a 1000 veces el LDD, y con el VHS-2 a 3 veces el LDD y el VHS-1 a 1000 veces el LDD. Se crearon paneles adicionales con el VHS-2 a 100 veces la concentración y VHS-1 a 3 veces el LDD. Todas las pruebas dieron como resultado un 100 % de detección para el VHS-1 y el VHS-2.

Reactividad cruzada

Para evaluar la sensibilidad analítica y la especificidad del ensayo Aptima HSV 1 & 2 en presencia de microorganismos no buscados que podrían estar presentes en las muestras clínicas, se crearon paneles de microorganismos no seleccionados en MTM a una concentración de prueba de 1×10^5 unidades/mL para virus y 1×10^6 unidades/mL para todos los demás organismos. Los organismos se analizaron en ausencia de VHS o en presencia de VHS-1 o VHS-2 a 3 veces el LDD. Cuarenta y siete de los 48 microbios analizados no tuvieron ningún efecto sobre el rendimiento del ensayo a 1×10^6 unidades/mL; no se observó ninguna interferencia del *Streptococcus pneumoniae* a 1×10^5 unidades/mL (Tabla 5).

Tabla 5: Especificidad analítica

Microorganismo	Concentración
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Actinomyces israelii</i>	1×10^6 ARN copias/mL ²
Adenovirus tipo 1	1×10^5 TCID50/mL ³
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1×10^6 UFC/mL ¹
<i>Atopobium vaginiae</i>	1×10^6 ARN copias/mL ²
<i>Bacteroides fragilis</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
Virus BK	1×10^5 ADN copias/mL ³
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Candida glabrata</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Clostridium difficile</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Clostridium perfringens</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Enterococcus faecium</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
Virus de Epstein-Barr	1×10^5 ADN copias/mL ³
<i>Escherichia coli</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}

Tabla 5: Especificidad analítica (continuación)

Microorganismo	Concentración
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
Virus de la hepatitis B	1x10 ⁵ UI/mL ^{4,3}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ ARN copias/mL ²
<i>Mycoplasma orale</i>	1x10 ⁶ ARN copias/mL ²
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
Parvovirus B19	1x10 ⁵ TCID50/mL ³
<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Streptococcus mitis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100 000 UFC/mL ^{1,2}
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
Virus varicela-zóster	1x10 ⁵ ADN copias/mL ³
Virus del Nilo occidental	1x10 ⁵ TCID50/mL ³

¹UFC = Unidades de formación de colonias.²Obtenido internamente de Hologic, Inc.³Obtenido internamente de ZeptoMetrix Corporation (Buffalo NY).⁴UI = unidades internacionales.

Interferencia

Las sustancias que pueden interferir (indicadas en la Tabla 6) se analizaron en el ensayo Aptima HSV 1 & 2 a concentraciones iniciales de 5 % vol/vol (V/V), que es equivalente al 100 % de la capacidad del hisopo (SC); o a concentraciones del 0,03 % o 5 % de peso/volumen (P/V); o a 4 x 10⁵ células/mL para los leucocitos. Se crearon paneles en MTM y se evaluaron los posibles efectos en la sensibilidad y especificidad del ensayo. El rendimiento de sensibilidad se evaluó por separado para el VHS-1 y el VHS-2 enriqueciendo las partículas víricas en sustancia con paneles a 3 veces el LDD. También se evaluó la especificidad en paneles negativos al VHS que contenían cada sustancia.

No se observó ningún efecto en el rendimiento del ensayo en presencia de una cantidad representativa de las siguientes sustancias exógenas al 5 % de P/V o V/V (100 % de SC): lubricante vaginal; crema antihongos; ducha vaginal; spray femenino; fármacos para aftas; loción labial; loción corporal; polvos corporales; solución de lavado a base de ácido acético glacial; crema para hemorroides; antitusivo; pasta de dientes y enjuague bucal. El espermicida o gel

anticonceptivo no produjo ninguna interferencia a una concentración de 4 % P/V o al 80 % de SC. No se observó ninguna interferencia en presencia de una cantidad representativa de medicamentos antivirales al 5 % P/V. No se observó ningún efecto en el rendimiento del ensayo con las siguientes sustancias endógenas analizadas a 5 % V/V o P/V (100 % de SC): orina, mucosidad y fluido seminal. No se observó ninguna interferencia en las siguientes sustancias endógenas a las concentraciones finales indicadas: leucocitos (4×10^5 células/mL); saliva (4 % P/V/80 % de SC), proteínas (4 % P/V/80 % de SC); sangre completa (0,5 % V/V/10 % de SC); y heces (0,03 % P/V/0,6 % de SC).

Tabla 6: Sustancias interferentes

Sustancia	Marca/Origen	Concentración final*
Lubricante vaginal	KY Jelly	5 % V/V
Espermicida/Gel anticonceptivo	Options Gynol II	4 % P/V
Crema antihongos	Monistat 3	5 % P/V
Lavado vaginal	Up & Up Feminine Wash	5 % V/V
Aerosol de higiene femenina	FDS Feminine Deodorant Spray	5 % P/V
Medicamento para herpes labial	Releev	5 % P/V
Bálsamo labial	Carmex	5 % P/V
Loción corporal	Vaseline Aloe Fresh	5 % P/V
Polvos	Summer's Eve Powder	5 % P/V
Solución de lavado a base de ácido acético glacial	Solución de lavado a base de ácido acético glacial	5 % V/V
Crema para hemorroides	Preparation H	5 % P/V
Orina	Recogida interna de orina	5 % V/V
Sangre entera	Recogida interna de sangre completa	0,5 % V/V
Leucocitos	Biological Specialty Corporation Leukocytes	4×10^5 células/mL
Saliva	Recogida interna de saliva	4 % P/V
Mucosidad	Sigma Aldrich Mucine	0,3 % P/V
Fluido seminal	Fluido seminal	5 % V/V
Heces	Heces	0,03 % P/V
Antitusivo	Dayquil	5 % V/V
Dentífrico	Sensodyne	5 % P/V
Proteína	Caseína	4 % P/V
Medicamento antiviral	Aciclovir	5 % P/V
Enjuague bucal	Listerine	5 % V/V

*Las concentraciones finales representan la concentración final (CF) en la muestra durante el análisis en el instrumento Panther. En términos de recogida SC, 5 % CF = 100 % de SC; 4 % CF = 80 % de SC; 0,5 % CF = 10 % de SC; 0,03 % CF = 0,6 % de SC.

Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo Aptima HSV 1 & 2 se evaluó en 3 ubicaciones externas en EE. UU. Las pruebas se realizaron con 3 lotes de reactivo de ensayo y 6 usuarios (2 en cada ubicación). En cada ubicación, se realizan ensayos durante al menos 6 días. Se crearon muestras del panel enriqueciendo partículas víricas de VHS-1 y/o VHS-2 en MTM. Las concentraciones finales de VHS-1 estaban entre 0 TCID₅₀/mL y 86,96 TCID₅₀/mL y las concentraciones finales de VHS-2 estaban entre 0 TCID₅₀/mL y 1,63 TCID₅₀/mL.

La solidez del ensayo Aptima HSV 1 & 2 se evaluó a través de pruebas de las muestras del panel negativas al VHS y muestras del panel con niveles bajos y moderados de VHS-1 y VHS-2. La concordancia con los resultados previstos fue del 100 % para el VHS-1 y el VHS-2 en las muestras del panel negativas y positivas moderadas, e iguales o inferiores al 100 % en las muestras del panel a concentraciones próximas o por debajo del 95 % del LDD del ensayo en MTM enriquecido con partículas víricas.

La Tabla 7 muestra la concordancia de los resultados del ensayo Aptima HSV 1 & 2 con los resultados previstos para todos los miembros del panel.

Tabla 7: Concordancia de los resultados del Aptima HSV 1 & 2 Assay con los resultados previstos

Conc		Conc. diana (DICT ₅₀ /mL)		Resultado previsto		Concuerda (n)			Concordancia (%) (IC del 95 %)	
VHS-1	VHS-2	VHS-1	VHS-2	VHS-1	VHS-2	N	VHS-1	VHS-2	VHS-1	VHS-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 = intervalo de confianza para las puntuaciones, Conc. = concentración, HNeg = negativo alto, LPos = positivo bajo, MPos = positivo moderado, Neg = negativo, Pos = positivo.

La Tabla 8 indica la variabilidad de la señal del VHS-1 y del VHS-2 en las muestras de baja positividad y positivas moderadas entre las ubicaciones, entre usuarios, entre lotes, entre días, entre ciclos, dentro de ciclos y en general en las muestras del panel con resultados positivos del ensayo Aptima HSV 1 & 2.

Tabla 8: Variabilidad de la señal del Aptima HSV 1 & 2 Assay en muestras de baja positividad y positivas moderadas

Virus	Conc	N	Media TiempoT	Entre centros	Entre usuarios	Entre Lotes	Entre días	Entre ciclo	En el ciclo	Total
				DE (% CV)	DE (% CV)	DE (% CV)	DE (% CV)	DE (% CV)	DE (% CV)	DE (% CV)
VHS-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)
VHS-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. = concentración, CV = coeficiente de variación, LPos = positivo bajo, MPos = positivo moderado, DE = desviación estándar.

Nota: La variabilidad de algunos factores puede ser numéricamente negativa. Esto puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. En estos casos, la DE y el CV se muestran como 0.

Desempeño del VHS-2 en matriz clínica bucal artificial

El ensayo del ensayo Aptima HSV 1 & 2 se realizó utilizando una matriz de muestra clínica artificial para proporcionar información de rendimiento adicional para la detección del VHS-2 en muestras bucales. Las partículas víricas de la cepa MS del VHS-2 se enriquecieron en matrices clínicas bucales de MTM o MTV negativas al VHS, a 3 veces el LDD o 1000 veces el LDD para cada medio respectivamente. Se analizaron 15 réplicas de muestras negativas al VHS, 25 réplicas de VHS-2 a 3 veces el LDD y 25 réplicas de VHS-2 a 1000 veces el LDD para matrices de MTV y MTM por usuarios que desconocían el contenido del panel. Los resultados mostraron un 100 % de detección de paneles artificiales bucales positivos con VHS-2 y un 0 % de detección en todas las muestras negativas en las dos matrices clínicas de MTM y MTV.

Rendimiento del Panther System Clinical Assay

Rendimiento clínico

Se realizó un estudio clínico prospectivo y multicéntrico para establecer las características de rendimiento del ensayo Aptima HSV 1 & 2. Una población de hombres y mujeres (n = 839) con lesiones cutáneas activas en la región anogenital¹ o bucal² participaron en un estudio realizado en 19 ubicaciones clínicas de EE. UU., que incluyeron centros de planificación familiar, servicios de pediatría/pacientes adolescentes, centros de tratamiento de infecciones de transmisión sexual, clínicas privadas y centros de salud públicos, hospitales, universidades y centros de investigación clínica. Se recolectaron dos (2) muestras de hisopo de una sola lesión en cada sujeto: una muestra se recogió con un hisopo de un kit de recogida de MTV disponible comercialmente, y la otra muestra se recogió con un hisopo del kit de recolección de muestras de hisopo multitest Aptima. Las muestras se procesaron de acuerdo con las instrucciones del prospecto correspondiente, y se analizaron con el cultivo vírico del sistema ELVIS HSV ID y D³ Typing Test y un procedimiento bidireccional de PCR/secuenciación validado, con el fin de establecer una interpretación del método de referencia compuesto para el VHS-1 y el VHS-2. La interpretación del método de referencia compuesto de interpretación se realizó de la forma siguiente: A) positivo si el cultivo vírico del sistema ELVIS HSV ID y D³ Typing Test o PCR/secuenciación tenía un resultado positivo para el tipo de VHS (VHS-1 o VHS-2), y B) negativo si el PCR/secuenciación tenía un resultado negativo para un tipo de VHS y el cultivo vírico del sistema ELVIS HSV ID y D³ Typing Test tenía un resultado negativo (o un resultado positivo para el otro tipo de VHS³). Las muestras se analizaron con un ensayo aprobado por la FDA para el VHS-1 y el VHS-2 para determinar el tipo de VHS en las siguientes situaciones: A) el procedimiento PCR/secuenciación detectó tanto el VHS-1 como el VHS-2, y B) los resultados combinados de las pruebas del método de referencia compuesto eran positivos para ambos tipos de VHS.

El rendimiento clínico del ensayo Aptima HSV 1 & 2 para la detección del VHS-1 y el VHS-2 ha sido evaluado en muestras obtenidas de lesiones en las regiones bucal y anogenital. El análisis del ensayo Aptima HSV 1 & 2 se realizó en 3 laboratorios externos. Se procesaron 108 ciclos del ensayo Aptima HSV 1 & 2; 107 (99,1 %) ciclos eran válidos y 1 ciclo (0,9 %) fue no válido debido a un error de hardware. Se procesaron 1629 muestras en ciclos válidos del ensayo Aptima HSV 1 & 2. De este total, 1628 (99,9 %) muestras obtuvieron resultados válidos y 1 (0,1 %) obtuvo un resultado no válido debido a un error de hardware (esta muestra no se reanalizó porque no tenía suficiente volumen). Hubo 7 muestras (0,4 %) que obtuvieron resultados no válidos iniciales; de estas, se reanalizaron 6 muestras y obtuvieron resultados válidos.

En total, 790 sujetos (285 varones y 505 mujeres) fueron evaluados para incluirlos en el análisis de rendimiento; 544 presentaban lesiones en la región anogenital y 246 presentaban lesiones en la región bucal.

En total, para la detección del VHS-1 y VHS-2 en las muestras obtenidas de las lesiones en la región anogenital, la sensibilidad fue del 93,4 % al 98,4 %, y la especificidad fue del 92,8 % al 99,8 % (Tabla 9 y Tabla 10).

La Tabla 9 indica la sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) del ensayo Aptima HSV 1 & 2 para la detección del VHS-1 y la prevalencia del VHS-1 (basado en el método de referencia compuesto) en lesiones anogenitales para cada tipo de muestra.

1 Las zonas incluyen abdomen, ano, glúteos, cuello uterino, prepucio, glánde/balano, ingle, Monte de Venus, pene, área perianal, perineo, recto, escroto, muslo, uretra/orificio de la uretra, vagina, área de la vulva y otras partes.

2 Incluye encías, labios, boca, lengua y otras partes

3 El sistema ELVIS HSV ID y D³ Typing Test no puede detectar las muestras coinfectadas. Sólo es posible tipificar las muestras negativas al VHS-2 para el VHS-1.

Tabla 9: Rendimiento clínico del Aptima HSV 1 & 2 Assay para la detección del VHS-1 en lesiones anogenitales por tipo de muestra

Tipo de muestra	Ubicación de la lesión	N	PR	PF	NR	NF	Prev (%)	% de sensibilidad (IC del 95 %) ³	% de especificidad (IC del 95 %) ³	% de VPP (IC del 95 %) ⁴	% de VPN (IC del 95 %) ⁴
MTV	Anogenital	528	71	1	451	5 ¹	14,4	93,4 (85,5-97,2)	99,8 (98,8->99,9)	98,6 (93,0-100)	98,9 (97,6-99,6)
	Anogenital en hombre	192	19	1	170	2	10,9	90,5 (71,1-97,3)	99,4 (96,8-99,9)	95,0 (78,6-99,8)	98,8 (96,4-99,9)
	Anogenital en mujer	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)
MTM de hisopo Aptima	Anogenital	531	71	2	454	4 ²	14,1	94,7 (87,1-97,9)	99,6 (98,4-99,9)	97,3 (91,1-99,6)	99,1 (97,9-99,8)
	Anogenital en hombre	192	20	2	169	1	10,9	95,2 (77,3-99,2)	98,8 (95,8-99,7)	90,9 (74,5-98,7)	99,4 (97,2-100)
	Anogenital en mujer	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)

MTM de hisopo Aptima = Muestra de hisopo multitest Aptima, Prev = prevalencia, MTV= Muestra de MTV.

¹Dos (2) muestras tenían resultados de cultivo negativos y 1 muestra tenía un resultado de cultivo positivo de VHS no tipificable.

²Una (1) muestra tenía un resultado de cultivo negativo y 1 muestra tenía un resultado de cultivo positivo de VHS no tipificable.

³Puntuación de IC.

⁴IC del 95 % del VPP calculado a partir del IC exacto del 95 % para el cociente de probabilidad positivo; IC del 95 % del VPN calculado a partir del IC exacto del 95 % para el cociente de probabilidad negativo.

La Tabla 10 indica la sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) del ensayo Aptima HSV 1 & 2 para la detección del VHS-2 y la prevalencia del VHS-2 (basado en el método de referencia compuesto) en lesiones anogenitales para cada tipo de muestra.

Tabla 10: Rendimiento clínico del Aptima HSV 1 & 2 Assay para la detección del VHS-2 en lesiones anogenitales por tipo de muestra

Tipo de muestra	Ubicación de la lesión	N	PR	PF	NR	NF	Prev (%)	% de sensibilidad (IC del 95 %) ³	% de especificidad (IC del 95 %) ³	% de VPP (IC del 95 %) ⁴	% de VPN (IC del 95 %) ⁴
MTV	Anogenital	533	248	7	270	8 ¹	48,0	96,9 (94,0-98,4)	97,5 (94,9-98,8)	97,3 (94,7-98,8)	97,1 (94,6-98,7)
	Anogenital en hombre	194	79	2	110	3	42,3	96,3 (89,8-98,7)	98,2 (93,7-99,5)	97,5 (92,0-99,7)	97,3 (93,0-99,4)
	Anogenital en mujer	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)
MTM de hisopo Aptima	Anogenital	535	253	20	258	4 ²	48,0	98,4 (96,1-99,4)	92,8 (89,1-95,3)	92,7 (89,4-95,3)	98,5 (96,3-99,6)
	Anogenital en hombre	194	79	6	106	3	42,3	96,3 (89,8-98,7)	94,6 (88,8-97,5)	92,9 (86,5-97,1)	97,2 (92,8-99,4)
	Anogenital en mujer	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)

MTM de hisopo Aptima = Muestra de hisopo multitest Aptima, Prev = prevalencia, MTV= Muestra de MTV.

¹Las 8 muestras tenían resultados de cultivo negativos.

²Las 4 muestras tenían resultados de cultivo negativos.

³Puntuación de IC.

⁴IC del 95 % del VPP calculado a partir del IC exacto del 95 % para el cociente de probabilidad positivo; IC del 95 % del VPN calculado a partir del IC exacto del 95 % para el cociente de probabilidad negativo.

La Tabla 11 indica la sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) del ensayo Aptima HSV 1 & 2 para la detección del VHS-1 y la prevalencia del VHS-1 (basado en el método de referencia compuesto) en lesiones bucales para cada tipo de muestra. La sensibilidad para la detección del VHS-1 en muestras recogidas en la región bucal fue del 97,5 % en muestras de hisopo multitest Aptima y del 81,5 % en muestras de MTV. De las 22 muestras de MTV con resultados falsos negativos para el VHS-1, 19 muestras tenían resultados de cultivo negativos. La sensibilidad para la detección del VHS-1 fue del 88,7 % en muestras de hisopo multitest Aptima y del 99,2 % en muestras de MTV. Nueve (9) de las 14 muestras de hisopo multitest Aptima con resultados falsos positivos provenían de 2 de las 17 ubicaciones que recogían muestras de la región bucal.

Tabla 11: Rendimiento clínico del Aptima HSV 1 & 2 Assay para la detección del VHS-1 en lesiones bucales por tipo de muestra

Tipo de muestra	N	PR	PF	NR	NF	Prev (%)	% de sensibilidad (IC del 95 %) ³	% de especificidad (IC del 95 %) ³	% de VPP (IC del 95 %) ⁴	% de VPN (IC del 95 %) ⁴
MTV	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)
MTM de hisopo 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)

MTM de hisopo Aptima = Muestra de hisopo multitest Aptima, Prev = prevalencia, MTV= Muestra de MTV.

¹Diecinueve muestras tenían resultados de cultivo negativos y 1 muestra tenía un resultado de cultivo positivo del VHS no tipificable.

²Las 3 muestras tenían resultados de cultivo negativos.

³Puntuación de IC.

⁴IC del 95 % del VPP calculado a partir del IC exacto del 95 % para el cociente de probabilidad positivo; IC del 95 % del VPN calculado a partir del IC exacto del 95 % para el cociente de probabilidad negativo.

Debido a que la mayoría de las infecciones bucales por VHS están producidas por el VHS-1, la prevalencia de infecciones por VHS-2 observada en la región bucal fue muy baja (entre 0,9 % y 1,3 %) (Tabla 12). De las 235 muestras de MTV y las 237 muestras de hisopo multitest Aptima, sólo 2 muestras de MTV y 3 muestras de hisopo multitest Aptima tuvieron resultados positivos según las pruebas de referencia. La sensibilidad para la detección del VHS-2 en muestras recogidas en la región bucal fue del 66,7 % en muestras de hisopo multitest Aptima y del 100 % en muestras de MTV. La única muestra de hisopo multitest Aptima recogida de una lesión bucal con un resultado falso negativo tuvo un resultado de cultivo negativo. Tal como se ha descrito anteriormente, la sensibilidad analítica para la detección del VHS-2 con muestras bucales artificiales fue del 100 %. La sensibilidad para la detección del VHS-2 fue del 100 % en muestras de hisopo multitest Aptima y del 100 % en muestras de MTV.

La Tabla 12 indica la sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) del ensayo Aptima HSV 1 & 2 para la detección del VHS-2 y la prevalencia del VHS-2 (basado en el método de referencia compuesto) en lesiones bucales para cada tipo de muestra.

Tabla 12: Rendimiento clínico del Aptima HSV 1 & 2 Assay para la detección del VHS-2 en lesiones bucales por tipo de muestra

Tipo de muestra	N	PR	PF	NR	NF	Prev (%)	% de sensibilidad (IC del 95 %) ²	% de especificidad (IC del 95 %) ²	% de VPP (IC del 95 %) ³	% de VPN (IC del 95 %) ³
MTV	235	2	0	233	0	0,9	100 (34,2-100)	100 (98,4-100)	100 (30,1-100)	100 (99,3-100)
MTM de hisopo 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)

MTM de hisopo Aptima = Muestra de hisopo multitest Aptima, Prev = prevalencia, MTV= Muestra de MTV.

¹Esta muestra tuvo un resultado de cultivo negativo.

²Puntuación de IC.

³IC del 95 % del VPP calculado a partir del IC exacto del 95 % para el cociente de probabilidad positivo; IC del 95 % del VPN calculado a partir del IC exacto del 95 % para el cociente de probabilidad negativo.

Rango de referencia y valores previstos

Prevalencia

La prevalencia del VHS-1 y VHS-2 en diferentes poblaciones depende de los factores de riesgo del paciente, tales como la edad, el estilo de vida y la sensibilidad de la prueba en relación con la detección de la infección. En la Tabla 13 se muestra un resumen de la prevalencia del VHS-1 y VHS-2 por grupos de edad y tipo de muestra, según lo determina el ensayo Aptima HSV 1 & 2 en el estudio de rendimiento clínico.

Tabla 13: Positividad del ensayo Aptima HSV 1 & 2 por categoría de ubicación de lesión y grupo de edad¹

Ubicación de la lesión Grupo de edad	% de prevalencia (N.º positivos/N.º analizadas)			
	Muestra de MTV		Muestra de hisopo multitest Aptima	
	VHS-1 positivo	VHS-2 positivo	VHS-1 positivo	VHS-2 positivo
Todas las ubicaciones de lesión				
Todas las edades	21,9 (170/778)	33,0 (257/778)	26,0 (203/782)	35,3 (276/782)
< 2 años	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)
De 2 a 11 años	30,8 (4/13)	0,0 (0/13)	50,0 (7/14)	0,0 (0/14)
De 12 a 21 años	21,5 (23/107)	40,2 (43/107)	24,8 (27/109)	42,2 (46/109)
De 22 a 30 años	18,9 (63/334)	36,8 (123/334)	21,4 (72/337)	39,5 (133/337)
De 31 a 40 años	20,7 (30/145)	33,8 (49/145)	27,3 (39/143)	35,7 (51/143)
De 41 a 50 años	22,7 (17/75)	26,7 (20/75)	25,7 (19/74)	28,4 (21/74)
De 51 a 60 años	30,9 (21/68)	22,1 (15/68)	37,7 (26/69)	24,6 (17/69)
> 60 años	32,3 (10/31)	22,6 (7/31)	35,5 (11/31)	25,8 (8/31)
Lesiones anogenitales				
Todas las edades	13,4 (72/537)	47,5 (255/537)	13,5 (73/539)	50,8 (274/539)
< 2 años	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
De 2 a 11 años	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
De 12 a 21 años	20,7 (17/82)	52,4 (43/82)	20,2 (17/84)	54,8 (46/84)
De 22 a 30 años	14,2 (38/268)	45,5 (122/268)	14,4 (39/270)	48,9 (132/270)
De 31 a 40 años	11,5 (12/104)	47,1 (49/104)	12,6 (13/103)	49,5 (51/103)
De 41 a 50 años	9,1 (4/44)	45,5 (20/44)	4,8 (2/42)	50,0 (21/42)
De 51 a 60 años	3,7 (1/27)	51,9 (14/27)	7,1 (2/28)	57,1 (16/28)
> 60 años	0,0 (0/10)	70,0 (7/10)	0,0 (0/10)	80,0 (8/10)
Lesiones bucales				
Todas las edades	40,7 (98/241)	0,8 (2/241)	53,5 (130/243)	0,8 (2/243)
< 2 años	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)
De 2 a 11 años	33,3 (4/12)	0,0 (0/12)	53,8 (7/13)	0,0 (0/13)
De 12 a 21 años	24,0 (6/25)	0,0 (0/25)	40,0 (10/25)	0,0 (0/25)
De 22 a 30 años	37,9 (25/66)	1,5 (1/66)	49,3 (33/67)	1,5 (1/67)
De 31 a 40 años	43,9 (18/41)	0,0 (0/41)	65,0 (26/40)	0,0 (0/40)
De 41 a 50 años	41,9 (13/31)	0,0 (0/31)	53,1 (17/32)	0,0 (0/32)
De 51 a 60 años	48,8 (20/41)	2,4 (1/41)	58,5 (24/41)	2,4 (1/41)
> 60 años	47,6 (10/21)	0,0 (0/21)	52,4 (11/21)	0,0 (0/21)

¹Ningún sujeto tenía resultados positivos del ensayo Aptima HSV 1 & 2 para el VHS-1 y el VHS-2.

Valores predictivos positivos y negativos para tasas de prevalencia hipotética

En la Tabla 14 se muestran los valores predictivos positivo y negativo (VPP y VPN) del ensayo Aptima HSV 1 & 2 para la detección del VHS-1 y VHS-2 en diferentes tasas de prevalencia hipotética para cada tipo de muestra. Estos cálculos se basan en la sensibilidad y especificidad estimadas y globales para cada tipo de muestra según se ha determinado en el estudio de rendimiento clínico.

Tabla 14: VPP y VPN hipotéticos para la detección del VHS-1 y VHS-2 por tipo de muestra y categoría de ubicación de lesión

Tipo de muestra	Ubicación de la lesión	Prevalencia (%)	VHS-1		VHS-2	
			VPP (%)	VPN (%)	VPP (%)	VPN (%)
Muestra de MTV	Anogenital	1	81,0	99,9	27,9	100
		2	89,6	99,9	43,9	99,9
		5	95,7	99,7	66,9	99,8
		10	97,9	99,3	81,0	99,6
		20	99,1	98,4	90,6	99,2
		30	99,5	97,3	94,3	98,6
		40	99,6	95,8	96,2	97,9
		50	99,8	93,8	97,5	96,9
	Bucal	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
MTM de hisopo Aptima	Anogenital	1	68,6	99,9	12,1	100
		2	81,5	99,9	21,8	100
		5	91,9	99,7	41,9	99,9
		10	96,0	99,4	60,3	99,8
		20	98,2	98,7	77,4	99,6
		30	98,9	97,8	85,4	99,3
		40	99,3	96,6	90,1	98,9
		50	99,5	94,9	93,2	98,4
	Bucal	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

MTM de hisopo Aptima = Muestra de hisopo multitest Aptima, MTV = Muestra de MTV.

Distribución del TiempoT para los controles positivos del Aptima HSV 1 & 2 Assay

En la Tabla 15 se muestra la distribución de los valores de TiempoT para el control positivo del ensayo Aptima HSV 1 & 2 de todos los ciclos válidos del ensayo Aptima HSV 1 & 2 procesados durante el estudio de rendimiento clínico.

Tabla 15: Distribución del TiempoT para los del Aptima HSV 1 & 2 Assay

Controles positivos

Estadísticas	TiempoT	
	VHS-1	VHS-2
N	107	107
Media	20,03	22,01
Mediana	19,8	21,7
DE	1,198	1,612
% CV	6,0	7,3
Mínimo	18,1	19,5
Máximo	22,9	26,2

CV = coeficiente de variación, DE = desviación estándar.

Bibliografía

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.

Información de contacto e historial de revisiones



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



Dirección del patrocinador australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Para obtener la dirección de correo electrónico y el número de teléfono de la asistencia técnica y la atención al cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Los incidentes graves que se produzcan en relación con el dispositivo en la Unión Europea deben comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario o el paciente.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion y sus logotipos asociados son marcas comerciales o registradas de Hologic, Inc. y/o sus filiales en Estados Unidos y/o en otros países.

El resto de las marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios.

Este producto puede estar cubierto por una o más patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

©2016-2026 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-23071-301 Rev. 002

2026-03

Historial de revisiones	Fecha	Descripción
AW-23071-301 Rev. 001	Octubre de 2022	- Se han creado las instrucciones de uso del ensayo APTIMA HSV 1 & 2 AW-23071 Rev. 001 reemplazará al AW-15346 Rev. 005. Para el cumplimiento con el IVDR (fuera de EE. UU. o EE. UU.), los datos son más sólidos. Se redactó un nuevo PI para cumplir con los requisitos del IVDR - Se ha añadido un resumen de Seguridad y rendimiento - Se ha actualizado la sección de Advertencias y precauciones - Se ha actualizado la sección de Materiales necesarios pero disponibles por separado - Se ha actualizado la sección del sistema Panther en Procedimiento de la prueba del Panther System - Se han eliminado las anteriores tablas, de la 13 a la 18, y se han vuelto a enumerar - Actualización de la información de contacto, incluida la siguiente: Representante de CE, marcado CE, información de representante de Australia y soporte técnico - Varias actualizaciones de estilo y formato

Historial de revisiones	Fecha	Descripción
AW-23071-301 Rev. 002	Marzo de 2026	• Se ha actualizado la tabla de peligros de la UE con las indicaciones de peligro más recientes. • Se han agregado dos enunciados a la sección Advertencias y precauciones. Uno aborda las buenas prácticas de laboratorio molecular y el monitoreo ambiental, y el otro se refiere al rechazo de los tubos de transporte que no contienen hisopos. • Se han actualizado las instrucciones de almacenamiento de muestras después de las pruebas para incluir la opción de cubrir el tubo de transporte de muestras con una tapa. También se ha agregado una nota sobre las condiciones que pueden afectar la capacidad de pipetear múltiples alícuotas. • Se ha actualizado la tabla de Material necesario que debe adquirirse por separado. • Se han actualizado las instrucciones de la sección Reconstitución y preparación de reactivos de un nuevo kit. • Se han actualizado las instrucciones de Manipulación de muestras para aumentar a 5 la cantidad de alícuotas separadas de un tubo de muestra y permitir la mezcla con vórtex en algunas situaciones. • Se han actualizado las instrucciones de Preparación del sistema para mayor claridad. • En la sección de Interpretación de los resultados, se ha agregado que debe recolectarse una nueva muestra si los resultados de la prueba de la muestra son inválidos por segunda vez. • Para mayor claridad, se ha actualizado el título de la sección "VHS-2 artificial bucal" a "Desempeño del VHS-2 en matriz clínica bucal artificial". • Varias actualizaciones de estilo, marcas registradas y formato.