

Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

Upute za uporabu
Za *in vitro* dijagnostičku uporabu
Samo za izvoz iz SAD-a

Opće informacije	2
Namjena	2
Sažetak i objašnjenje testa	2
Načela postupka	3
Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti	3
Upozorenja i mjere opreza	4
Zahtjevi za skladištenje reagensa i rukovanje njima	6
Prikupljanje i skladištenje ispitaka	7
Sustav Panther	9
Isporučeni reagensi i materijali	9
Potrebni materijali koji su dostupni zasebno	10
Postupak testiranja na sustavu Panther	12
Napomene o postupku	15
Kontrola kvalitete	16
Tumačenje testa	17
Ograničenja	18
Analitička učinkovitost testa na sustavu Panther	19
Medij za prijenos virusa (VTM)	19
Analitička osjetljivost	19
Provjera LoD-a	19
Koinfekcija	20
Križna reaktivnost	20
Interferencija	21
Obnovljivost	23
Učinkovitost HSV-2 u umjetno dobivenoj oralnoj kliničkoj matrici	24
Klinička učinkovitost testa na sustavu Panther	25
Klinička učinkovitost	25
Referentni raspon i očekivane vrijednosti	28
Bibliografija	32
Kontaktne podaci i povijest revizija	33

Opće informacije

Namjena

Test Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (test Aptima HSV 1 & 2) jest *in vitro* test amplifikacije nukleinske kiseline (engl. *nucleic acid amplification test*, NAAT) u stvarnom vremenu za kvalitativno otkrivanje i diferencijaciju glasnike RNK (mRNK) (engl. *messenger RNA*, mRNA) virusa herpes simplex (HSV) tipa 1 (HSV-1) i tipa 2 (HSV-2) na sustavu Panther™.

Test se može koristiti za testiranje ispitaka brisa koje su prikupili kliničari s lezija kože u anogenitalnoj ili oralnoj regiji i koji su postavljeni u medij za prijenos virusa (engl. *viral transport media*, VTM) ili medij za prijenos ispitaka (engl. *specimen transport medium*, STM) Aptima. Test se upotrebljava kao pomoć u dijagnosticiranju infekcija virusom HSV-1 i/ili HSV-2 u simptomatskih muških i ženskih pacijenata.

Proizvod nije namijenjen za upotrebu s cerebrospinalnom tekućinom ili za prenatalni probir.

Sažetak i objašnjenje testa

Virusi herpes simplex tipa 1 i 2 (HSV-1 i HSV-2) dvolančani su DNK virusi koji pripadaju potporodici *Alphaherpesvirinae*. Iako su HSV-1 i HSV-2 blisko povezani, genetski i serološki su različiti (1). U Sjedinjenim Američkim Državama, u razdoblju 2005. – 2010., seroprevalencija virusa HSV-1 bila je 53,9 %, a seroprevalencija virusa HSV-2 15,7 % (2).

HSV-1 i HSV-2 obično inficiraju oštećenu kožu ili sluznicu usta ili genitalija, uzrokujući bolne lezije. Nakon početne simptomatske faze virusi uspostavljaju latentne infekcije u senzornim živčanim ganglijima uzrokujući neizlječive doživotne infekcije kod ljudi. Mnogi događaji, poput fizičkog ili emocionalnog stresa, vrućice, ultraljubičastog svjetla i oštećenja tkiva, mogu uzrokovati reaktivaciju virusa, što dovodi do ponovnih lezija ili asimptomatskog širenja virusa (1,3).

Iako i HSV-1 i HSV-2 mogu inficirati oralnu i genitalnu sluznicu, HSV-1 je odgovoran za većinu negenitalnih infekcija. Genitalna infekcija HSV-om jedna je od najčešćih spolno prenosivih infekcija u SAD-u. Iako je HSV-2 i dalje najčešći uzrok genitalnog herpesa, nedavne studije ukazuju na porast učestalosti genitalnog herpesa izazvanog virusom HSV-1 (4). Genitalne infekcije HSV-om mogu olakšati zarazu i prijenos HIV-a (5). Osim toga, trudnice s kasnom primarnom genitalnom infekcijom HSV-om imaju 50 % šanse prenijeti virus na fetus i imaju veći rizik od spontanog pobačaja i prijevremenog poroda (6).

Visok postotak asimptomatskih infekcija HSV-om ne prepoznaju ni pacijenti ni liječnici. (7). Točna dijagnoza infekcija HSV-om poboljšava savjetovanje, dovodi do učinkovitog liječenja i smanjuje prijenos (4).

Povijesno gledano, infekcije HSV-om dijagnosticirane su korištenjem virusne kulture nakon čega je slijedila tipizacija HSV-a s pomoću imunofluorescencije, što su dugotrajni i zahtjevni postupci. Testovi amplifikacije nukleinskih kiselina (NAAT) pokazali su se osjetljivijima od metoda kulture i pružaju puno kraće vrijeme do rezultata (4).

Test Aptima HSV 1 & 2 jest NAAT razvijen za uporabu na automatiziranom sustavu Panther koji rabi hvatanje ciljne sekvence, amplifikaciju posredovanu transkripcijom (TMA) i otkrivanje HSV-1 i HSV-2 u stvarnom vremenu i internu kontrolu (IC). Test Aptima HSV 1 & 2 amplificira i otkriva mRNK za HSV-1 i HSV-2 (8). Te RNK ekspimiraju se iz virusnog genoma tijekom ciklusa infekcije i pakiraju se unutar virusnih čestica HSV-1 i HSV-2 prije oslobađanja virusa iz zaraženih stanica (9). Test Aptima HSV 1 & 2 stoga otkriva stanice zaražene virusom i same zrele virusne čestice.

Načela postupka

Test Aptima HSV 1 & 2 uključuje tri glavna koraka, a svi se odvijaju u jednoj epruveti na sustavu Panther: hvatanje ciljne sekvence, amplifikacija ciljne sekvence tehnologijom TMA i otkrivanje produkata amplifikacije (amplikona) s pomoću fluorescentno obilježenih proba (izvora svjetlosti). Test uključuje IC u svaki test za praćenje hvatanja, amplifikacije i otkrivanja ciljne nukleinske kiseline.

Ispitci se prikupljaju ili prenose u epruvetu koja sadržava STM koji lizira stanice, otpušta mRNK i štiti je od degradacije tijekom pohrane. Kada se provodi test Aptima HSV 1 & 2, ciljna mRNK se izolira iz ispitka s pomoću oligomera za hvatanje koji su vezani za magnetske mikročestice. Oligomeri za hvatanje sadržavaju sekvence komplementarne specifičnim regijama ciljnih molekula mRNK HSV-a, kao i niz ostataka deoksiadenozina. Tijekom koraka hibridizacije regije specifične za sekvencu oligomera za hvatanje vežu se na specifične regije ciljne molekule mRNK HSV-a. Kompleks oligomera za hvatanje i ciljne sekvence zatim se izdvaja iz otopine tako što se temperatura reakcije smanjuje na sobnu temperaturu. To smanjenje temperature omogućuje hibridizaciju između regije deoksiadenozina na oligomeru za hvatanje i molekula polideoksitimidina koje su kovalentno vezane na magnetske čestice. Mikročestice, uključujući uhvaćene ciljne molekule mRNK HSV-a koje su na njih vezane, povlače se na stijenke reakcijske epruvete primjenom magneta i supernatant se aspirira. Čestice se ispiru kako bi se uklonila preostala matrica ispitka koja može sadržavati inhibitore amplifikacije.

Kada hvatanje ciljne sekvence završi, mRNK HSV-a se amplificira s pomoću TMA, metode amplifikacije nukleinske kiseline temeljene na transkripciji u kojoj se primjenjuju dva enzima, MMLV reverzna transkriptaza i T7 RNK polimeraza. Reverznom transkriptazom generira se kopija DNK ciljne sekvence mRNK koja sadržava promotorsku sekvencu za T7 RNK polimerazu. T7 RNK polimeraza proizvodi više kopija amplikona RNK iz DNK predloška za kopiranje.

Detekcija se postiže uporabom izvora svjetlosti u obliku jednolančanih nukleinskih kiselina koji su prisutni tijekom amplifikacije ciljne sekvence i koji se specifično hibridiziraju s amplikonima u stvarnom vremenu. Svaki izvor svjetlosti sadržava fluorofor i gasitelj. Prigušivač potiskuje fluorescenciju fluorofora jer je dizajniran da bude u neposrednoj blizini kada se ne hibridizira s amplikonom. Kada se izvor svjetlosti veže za amplikon, gasitelj se udaljava od fluorofora i emitirat će signal na određenoj valnoj duljini kada ga pobudi izvor svjetlosti. Izvori svjetlosti se više hibridiziraju kada je prisutno više amplikona. Povećanje fluorescentnog signala uslijed progresivne amplifikacije otkriva se fluorometrima unutar sustava Panther. Sustav Panther može otkriti i razlikovati tri fluorescentna signala koji odgovaraju produktima amplifikacije HSV-1, HSV-2 i IC-a. Fluorescencija (mjerena u relativnim jedinicama fluorescencije [RFU]) prati se tijekom vremena kako bi se dobila krivulja pojave fluorescencije u stvarnom vremenu za svaku reportersku boju. Softver sustava Panther uspoređuje krivulje pojave fluorescencije s fiksnim vremenima granične vrijednosti kako bi prikazao rezultate (TTime) za HSV-1, HSV-2 i IC.

Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti

SSP (Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti, engl. *Summary of Safety and Performance*) dostupan je u europskoj bazi podataka o medicinskim uređajima (Eudamed), gdje je povezan s identifikatorima uređaja (osnovni UDI-DI). Za pronalaženje SSP-a za test Aptima Herpes Simplex Viruses 1&2, pogledajte osnovni jedinstveni identifikator proizvoda (BUDI): **54200455DIAGAPTHSV12S7**.

Upozorenja i mjere opreza

- A. Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.
- B. Za profesionalnu uporabu.
- C. Kako biste smanjili rizik od nevaljanih rezultata, prije izvođenja ovog testa pažljivo pročitajte cijelu uputu i *Priručnik za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion™*.

U vezi s laboratorijem

- D. Upotrebljavajte samo isporučene ili određene jednokratne laboratorijske proizvode.
- E. Pridržavajte se rutinskih laboratorijskih mjera opreza. Nemojte pipetirati ustima. Nemojte jesti, piti ili pušiti u označenim radnim područjima. Prilikom rukovanja ispitcima i reagensima iz kompleta nosite jednokratne rukavice bez pudera, zaštitne naočale i laboratorijsku kutu. Nakon rukovanja ispitcima i reagensima iz kompleta temeljito operite ruke.
- F. Radne površine, pipete i drugu opremu potrebno je redovito dekontaminirati otopinom natrijeva hipoklorita od 2,5 % do 3,5 % (0,35 M do 0,5 M).
- G. Sve materijale koji su došli u kontakt s ispitcima i reagensima odložite u otpad u skladu s lokalnim, državnim i saveznim propisima (10, 11, 12, 13). Temeljito očistite i dezinficirajte sve radne površine.
- H. Primjenjujte dobre standardne prakse za molekularne laboratorije, uključujući praćenje stanja okoliša.

U vezi s ispitkom

- I. Datumi isteka roka valjanosti kompleta za prijenos ispitaka odnose se na prikupljanje/prijenos ispitaka, a ne na testiranje ispitaka. Ispitci prikupljeni/preneseni u bilo kojem trenutku prije tih datuma isteka roka valjanosti valjani su za testiranje pod uvjetom da su transportirani i pohranjeni u skladu s uputom, čak i ako su datumi roka valjanosti na epruvetama za prijenos istekli.
- J. Ispitci mogu biti infektivni. Prilikom izvođenja ispitivanja pridržavajte se univerzalnih mjera opreza (10, 11, 12). Metode propisnog rukovanja i odlaganja u otpad treba utvrditi u skladu s lokalnim propisima (13). Samo osoblje koje je adekvatno osposobljeno za uporabu testa Aptima HSV 1 & 2 i za rukovanje zaraznim materijalima smije provoditi ovaj postupak.
- K. Tijekom prijevoza ispitka održavajte odgovarajuće uvjete pohrane kako biste osigurali cjelovitost ispitka. Stabilnost ispitka u uvjetima prijevoza drugačijim od preporučenih nije procijenjena.
- L. Izbjegavajte križnu kontaminaciju prilikom izvođenja koraka rukovanja ispitcima. Budite posebno oprezni kako biste izbjegli kontaminaciju širenjem aerosola prilikom otpuštanja ili otvaranja ispitaka. Ispitci mogu sadržavati ekstremno visoke razine organizama. Pobrinite se da se spremnici ispitaka međusobno ne dodiruju, a iskorišteni materijal odložite pazeći da ga ne prenosite preko otvorenih spremnika. Zamijenite rukavice ako dođu u kontakt s ispitkom.
- M. Nakon probijanja iz čepova za epruvete za transport Aptima pod određenim uvjetima može istjecati tekućina. Pogledajte odgovarajući *Postupak ispitivanja* za više informacija.
- N. Ako laboratorij primi epruvetu za prikupljanje ispitaka brisa Aptima™ Multitest bez štapića za bris, s 2 štapića ili sa štapićem koji nije isporučilo društvo Hologic, ispitak se mora odbaciti. Prije odbacivanja epruvete za transport brisova bez brisa provjerite da se ne radi o epruveti za prijenos ispitaka Aptima jer ta epruveta za transport ispitaka neće sadržavati bris.

U vezi s testom

- O. Nemojte zamjenjivati, miješati ili kombinirati analitičke reagense iz kompleta s drugim brojevima osnovne serije. Kontrole i testne tekućine mogu se međusobno zamijeniti.
- P. Izbjegavajte kontaminaciju reagensa mikroorganizmima i nukleazom.
- Q. Zatvorite i pohranite sve analitičke reagense na propisanim temperaturama. Uporaba nepravilno pohranjenih analitičkih reagensa može utjecati na učinkovitost testa. Pogledajte *Zahtjevi za skladištenje reagensa i rukovanje njima* i *Postupak testiranja na sustavu Panther* za više informacija.
- R. Nemojte kombinirati nikakve analitičke reagense ili tekućine bez posebnih uputa. Reagense ili tekućine nemojte puniti do vrha. Sustav Panther provjerava razine reagensa.
- S. Neki reagensi u ovom kompletu označeni su simbolima rizika i sigurnosti.

Napomena: informiranje o opasnostima odražava klasifikaciju sigurnosno-tehničkih listova (engl. Safety Data Sheets, SDS) u EU-u. Informacije o opasnostima specifične za vašu regiju potražite u SDS-u specifičnom za regiju u Biblioteci sigurnosno-tehničkih listova (engl. Safety Data Sheet Library) na www.hologicds.com. Za više informacija o simbolima pogledajte legendu simbola na <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informacije o opasnostima u EU-u	
—	Enzyme Reagent HEPES 1 – 5 % TRITON X-100 1 – 5 % H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima. P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.
—	Enzyme Reconstitution Solution GLICEROL 20 – 25 % TRITON X-100 5 – 10 % HEPES 1 – 5 % — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima. P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš. P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.
—	Promoter Reagent MAGNESIUM CHLORIDE 60 – 65 % — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.
—	Target Capture Reagent HEPES 5 – 10 % EDTA 1 – 5 % LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 – 5 % — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.
—	Amplification Reagent MAGNESIUM CHLORIDE 60 – 65 % — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš P501 – Odložiti sadržaj/spremnik u odobreni pogon za odlaganje otpada.

Zahtjevi za skladištenje reagensa i rukovanje njima

A. Sljedeća tablica prikazuje uvjete skladištenja i stabilnost reagensa i kontrola.

Reagens	Skladištenje neotvorenog proizvoda	Otvoreni komplet (rekonstituiran)	
		Skladištenje	Stabilnost
Amplifikacijski reagens	od 2 °C do 8 °C		
Otopina za rekonstituciju amplifikacije	od 15 °C do 30 °C	od 2 °C do 8 °C	30 dana ¹
Enzimski reagens	od 2 °C do 8 °C		
Otopina za rekonstituciju enzima	od 15 °C do 30 °C	od 2 °C do 8 °C	30 dana ¹
Promotorski reagens	od 2 °C do 8 °C		
Otopina za rekonstituciju promotora	od 15 °C do 30 °C	od 2 °C do 8 °C	30 dana ¹
Reagens za hvatanje ciljne sekvence	od 15 °C do 30 °C	od 15 °C do 30 °C ²	30 dana ¹
Negativna kontrola	od 2 °C do 8 °C		Bočica za jednokratnu uporabu
Pozitivna kontrola	od 2 °C do 8 °C		Bočica za jednokratnu uporabu
Interna kontrola	od 2 °C do 8 °C		Bočica za jednokratnu uporabu

¹ Kada se reagensi uklone iz sustava Panther, potrebno ih je odmah vratiti na njihovu odgovarajuću temperaturu skladištenja.

² Uvjeti skladištenja za radni reagens za hvatanje ciljne sekvence (reagens za hvatanje ciljne sekvence s dodanom internom kontrolom).

- B. Sve neiskorištene rekonstituirane reagense i radni reagens za hvatanje ciljne sekvence (wTCR) bacite nakon 30 dana ili nakon isteka roka valjanosti osnovne serije, ovisno o tome što nastupi prije.
- C. Reagensi pohranjeni u sustavu Panther stabilni su 120 sati.
- D. Kontrole su stabilne do datuma navedenog na bočicama.
- E.  Promotorski reagens i rekonstituirani promotorski reagens fotosenzitivni su. Zaštitite te reagense od svjetlosti tijekom skladištenja i pripreme za upotrebu.
- F. Izbjegavajte križnu kontaminaciju tijekom rukovanja reagensima i njihova skladištenja. Prije svakog skladištenja ponovno zatvorite sve rekonstituirane reagense novim čepovima za reagense.
- G. **Reagense nemojte zamrzavati.**

Prikupljanje i skladištenje ispitaka

Napomena: rukujte svim ispitcima kao da sadržavaju potencijalno infektivne agense. Primjenjujte univerzalne mjere opreza.

Napomena: pazite da izbjegnute križnu kontaminaciju tijekom koraka rukovanja uzorkom. Na primjer, bacite upotrijebljeni materijal bez prelaska preko otvorenih epruveta.

Mogu se upotrebljavati ispitci brisa koje je prikupio kliničar s anogenitalnih i oralnih lezija postavljeni u STM ili VTM.

Uzorci lezija mogu se prikupiti s pomoću:

- kompleta za prikupljanje ispitaka brisa Aptima™ Multitest (za STM)
- komercijalno dostupnog VTM kompleta za prikupljanje (BD Universal Viral Transport / Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 i Remel M5)

A. Upute za prikupljanje

Za specifične upute o prikupljanju ispitaka pogledajte uputu odgovarajućeg kompleta za prikupljanje ispitaka (komplet za prikupljanje ispitaka brisa Aptima Multitest, za ispitke prikupljene u STM-u, ili Aptima Specimen Transfer Kit™, za ispitke prikupljene u VTM-u).

B. Transport i skladištenje ispitaka prije testiranja

1. Ispitci brisa prikupljeni u kompletu za prikupljanje ispitaka brisa Aptima Multitest
 - a. Nakon prikupljanja ispitka, prenesite ga i pohranite u epruveti za transport ispitaka brisa Aptima na temperaturi od 2 °C do 30 °C do 60 dana.
 - b. Ako je potrebno dulje skladištenje, ispitke čuvajte na temperaturi ≤ -20 °C do 90 dana nakon prikupljanja.
2. Ispitci brisa prikupljeni u kompletu za prikupljanje s VTM-om
 - a. Ispitak transportirajte i čuvajte u epruveti s VTM-om na temperaturi od 2 °C do 8 °C do 3 dana nakon prikupljanja.
 - b. Prije testiranja testom Aptima HSV 1 & 2 ispitci prikupljeni u VTM moraju se prenijeti u epruvetu za prijenos iz kompleta za prijenos ispitaka Aptima koja sadržava 2,9 mL STM-a prema uputama u nastavku.
 - c. Priprema područja za prijenos ispitka
 - i. Navucite čiste rukavice bez pudera.
 - ii. Prebrišite radne površine i pipetore otopinom natrijeva hipoklorita od 2,5 % do 3,5 % (0,35 M do 0,5 M).
 - iii. Ostavite otopinu natrijeva hipoklorita na radnoj površini i pipetorima najmanje 1 minutu, a zatim isperite DI vodom. Osušite površine čistim papirnatim ručnicima.
 - iv. Prekrijte radnu površinu čistim, apsorpcijskim pokrovima s plastičnom poledinom za radne površine u laboratoriju.
 - v. U područje za prijenos ispitaka postavite stalak za epruvete s dovoljnim brojem epruveta za prijenos ispitaka Aptima koji odgovara broju ispitaka u VTM-u koji se testiraju.
 - vi. Označite svaku epruvetu za prijenos ispitaka Aptima pristupnim brojem ili identifikacijskim brojem ispitka.

d. Postupak prijenosa ispitka

- i. Kako biste smanjili rizik kontaminacije drugih ispitaka, obrađujte jedan po jedan ispitak u VTM-u.
 - ii. Navucite čiste rukavice bez pudera i postavite ispitke koje želite testirati u područje za prijenos ispitaka.
 - iii. Uzmite 1 ispitak u VTM-u. Skinite čep s odgovarajuće epruvete za prijenos ispitaka Aptima i odložite ga na radnu površinu s navojima okrenutim prema gore.
 - iv. Miješajte ispitak u VTM-u u vorteks miješalici tijekom 3 do 10 sekundi. Skinite čep s epruvete i odložite ga na radnu površinu s navojima okrenutim prema gore.
 - v. Unutar 1 minute nakon miješanja u vorteks miješalici pipetom prenesite 0,5 mL ispitka u VTM-u u epruvetu za prijenos ispitaka Aptima iz kompleta za prijenos ispitaka Aptima koja sadržava 2,9 mL STM-a.
 - vi. Vrh pipete bacite u posudu s 0,5-postotnom otopinom natrijeva hipoklorita.
 - vii. Ponovno čvrsto zatvorite epruvetu za prijenos ispitka Aptima. Lagano preokrenite epruvetu 2 do 3 puta kako biste osigurali potpunu mješavinu ispitka.
 - viii. Po želji ponovno zatvorite epruvetu s preostalim ispitkom u VTM-u za pohranu na $\leq -70^{\circ}\text{C}$.
 - ix. Ponovite korake iii do viii za prijenos narednih ispitaka. Često mijenjajte rukavice bez pudera, a posebno ako dođu u kontakt s ispitkom.
- e. Nakon prijenosa u epruvetu za prijenos ispitaka Aptima ispitci se mogu transportirati i čuvati na temperaturi od 2°C do 30°C najviše 30 dana.
- f. Ako je potrebno dulje skladištenje, zamrznite ispitak u VTM-u u epruveti za prijenos ispitaka Aptima do 90 dana na $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

C. Skladištenje ispitaka nakon testiranja

1. Ispitane ispitke pohranjujte na nosaču u uspravnom položaju.
2. Epruvete s ispitcima trebaju se zatvoriti novom, čistom plastičnom barijerom, barijerom od folije ili čepom.

Napomena: bilo koji uvjet koji rezultira gubitkom ili isparavanjem medija tijekom transporta, rukovanja ili skladištenja može utjecati na mogućnost pipetiranja više alikvota.

3. Ako ispitke koji se testiraju treba zamrznuti ili transportirati, uklonite probojni čep i na epruvete za transport ispitaka stavite nove, neprobojne čepove. Ako se ispitci trebaju transportirati na testiranje u drugu ustanovu, potrebno je održavati preporučene temperature.
4. Prije uklanjanja čepa s prethodno testiranih i ponovno začepljenih ispitaka epruvete za transport ispitaka potrebno je centrifugirati u trajanju od 5 minuta pri 420 RCF (relativna centrifugalna sila) kako bi se sva tekućina spustila na dno epruvete. **Izbjegavajte prskanje i križnu kontaminaciju.**

Napomena: ispitci se moraju transportirati u skladu s primjenjivim nacionalnim, međunarodnim i regionalnim propisima o transportu.

Sustav Panther

Reagensi za test Aptima HSV 1 & 2 za sustav Panther navedeni su u nastavku. Pored naziva reagensa navedeni su i identifikacijski simboli reagensa.

Isporučeni reagensi i materijali

Komplet testa Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2

100 testova (2 kutije testova i 1 komplet kontrola), kat. br. PRD-03568

Kontrole su dostupne zasebno. Pogledajte pojedinačni kataloški broj u nastavku.

Test Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 u rashladnoj kutiji (nakon primitka čuvajte na 2 °C do 8 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
A	Amplifikacijski reagens <i>Neinfektivne nukleinske kiseline osušene u puferiranoj otopini.</i>	1 bočica
E	Enzimski reagens <i>Reverzna transkriptaza i RNK polimeraza osušene u otopini tretiranoj puferom HEPES.</i>	1 bočica
PRO	Promotorski reagens <i>Neinfektivne nukleinske kiseline osušene u puferiranoj otopini.</i>	1 bočica
IC	Interna kontrola <i>Neinfektivne nukleinske kiseline u puferiranoj otopini.</i>	1 × 0,3 mL

Test Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 u kutiji sobne temperature (nakon primitka čuvajte na 15 °C do 30 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
AR	Otopina za rekonstituciju amplifikacije <i>Vodena otopina koja sadržava glicerol i konzervanse.</i>	1 × 7,2 mL
ER	Otopina za rekonstituciju enzima <i>Otopina tretirana puferom HEPES koja sadržava površinski aktivnu tvar i glicerol.</i>	1 × 5,8 mL
PROR	Otopina za rekonstituciju promotora <i>Vodena otopina koja sadržava glicerol i konzervanse.</i>	1 × 4,5 mL
TCR	Reagens za hvatanje ciljne sekvence <i>Nukleinske kiseline u puferiranoj otopini soli koja sadržava krutu fazu i neinfektivne nukleinske kiseline.</i>	1 × 26,0 mL
	Prstenovi za rekonstituciju	3
	List s crtičnim kodovima osnovne serije	1 list

Komplet kontrola Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (kat. br. PRD-03569)
(nakon primitka čuvajte na 2 °C do 8 °C)

Simbol	Komponenta	Količina
KONTROLA –	Negativna kontrola <i>Puferirana otopina.</i>	5 × 2,7 mL
KONTROLA +	Pozitivna kontrola <i>Neinfektivne nukleinske kiseline u puferiranoj otopini.</i>	5 × 1,7 mL
	Kontrolni list crtičnih kodova	1 list

Potrebni materijali koji su dostupni zasebno

Napomena: materijali s navedenim kataloškim brojevima dostupni su kod društva Hologic, osim ako je drugačije naznačeno.

Materijal	Kat. br.
Sustav Panther	303095
Sustav Panther Fusion	PRD-04172
Panther System Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Komplet ciklusa sustava Panther za testove u stvarnom vremenu (samo za testove u stvarnom vremenu)	PRD-03455 (5000 testova)
<i>Komplet testnih tekućina Aptima™ (naziva se i kompletom univerzalnih tekućina)</i>	303014 (1000 testova)
<i>sadržava otopinu za ispiranje Aptima, pufer za deaktivacijsku tekućinu Aptima i uljni reagens Aptima</i>	
Jedinice za više epruveta (engl. <i>multi-tube units</i> , MTU)	104772-02
Komplet vrećica za otpad Panther	902731
Poklopac koša za otpad Panther	504405
ili komplet ciklusa Panther	303096 (5000 testova)
<i>(kada se TMA testovi koji nisu u stvarnom vremenu izvode paralelno s TMA testovima u stvarnom vremenu)</i>	
<i>Sadržava MTU-ove, vrećice za otpad, poklopce koša za otpad, sustav za automatsko otkrivanje i testne tekućine</i>	
Komplet testnih tekućina Aptima	303014 (1000 testova)
<i>(sadržava otopinu za ispiranje Aptima, pufer za deaktivacijsku tekućinu Aptima i uljni reagens Aptima)</i>	
Jedinice za više epruveta (engl. <i>multi-tube units</i> , MTU)	104772-02
Vrhovi, volumena 1000 µL, filtrirani, provodni, s mogućnosti mjerenja razine tekućine i za jednokratnu uporabu	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Nisu svi proizvodi dostupni u svim regijama. Obratite se svojem predstavniku za informacije specifične za regiju</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Komplet za prijenos ispitka Aptima	301154C
<i>za uporabu s ispitcima prikupljenima u VTM-u</i>	
Aptima komplet za prijenos ispitka — s mogućnošću ispisa	PRD-05110
<i>za uporabu s ispitcima prikupljenima u VTM-u</i>	

Komplet za prikupljanje ispitaka brisa Aptima Multitest	PRD-03546
Izbjeljivač, 5,0 % do 8,25 % (0,7 M do 1,16 M) otopine natrijeva hipoklorita	—
Rukavice bez pudera za jednokratnu upotrebu	—
Probojni čepovi Aptima	105668
Zamjenski neprobojni čepovi	103036A
Zamjenski čepovi za reagense	—
<i>Otopine za rekonstituciju amplifikacijskih, enzimskih i promotorskih reagensa</i>	
<i>CL0041 (100 čepova)</i>	
<i>TCR</i>	<i>501604 (100 čepova)</i>
Pokrovi s plastičnom poledinom za radne površine u laboratoriju	—
Maramice koje ne ostavljaju dlačice	—
Pipetor	—
Vrhovi	—
Vorteks miješalica	—
Centrifuga	—

Opcionalni materijali**Kat. br.**

Pojačivač izbjeljivača za čišćenje Hologic	302101
<i>za rutinsko čišćenje površina i opreme</i>	
Klackalica za epruvete	—

Postupak testiranja na sustavu Panther

Napomena: dodatne informacije o postupku na sustavu Panther potražite u Priručniku za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion.

A. Priprema radnog prostora

1. Očistite radne površine na kojima će se pripremati reagensi. Prebrišite radne površine otopinom natrijeva hipoklorita od 2,5 % do 3,5 % (0,35 M do 0,5 M). Ostavite otopinu natrijeva hipoklorita na površinama najmanje 1 minutu, a zatim je isperite deioniziranom (DI) vodom. Nemojte ostaviti otopinu natrijeva hipoklorita da se osuši. Prekrijte radnu površinu čistim, apsorpcijskim pokrovima s plastičnom poledinom za radne površine u laboratoriju.
2. Očistite zasebnu radnu površinu na kojoj će se pripremati uzorci. Upotrebljavajte gore opisani postupak (korak A.1).
3. Očistite sve pipetore. Upotrebljavajte gore opisani postupak čišćenja (korak A.1).

B. Rekonstitucija reagensa / priprema novog kompleta

Napomena: rekonstituciju reagensa potrebno je provesti prije početka rada na sustavu Panther.

1. Prije testiranja amplifikacijski, enzimski i promotorski reagensi moraju se rekonstituirati kombiniranjem sadržaja bočica liofiliziranog reagensa s odgovarajućom otopinom za rekonstituciju.
 - a. Prije uporabe ostavite liofilizirane reagense da dosegnu sobnu temperaturu (od 15 °C do 30 °C).
 - b. Svaku otopinu za rekonstituciju uparite s njezinim liofiliziranim reagensom. Prije pričvršćivanja prstena za rekonstituciju provjerite podudaraju li se simboli na naljepnicama na otopini za rekonstituciju i reagensu.
 - c. Provjerite brojeve serija na listu crtičnih kodova osnovne serije kako biste se uvjerali da ste uparili odgovarajuće reagense. Označite čepove bočica s otopinom za rekonstituciju.
 - d. Otvorite staklenu bočicu liofiliziranog reagensa i kraj prstena za rekonstituciju s urezima čvrsto umetnite u otvor staklene bočice (Slika 1, korak 1).
 - e. Otvorite odgovarajuću bočicu otopine za rekonstituciju i čep stavite na čistu, prekrivenu radnu površinu.
 - f. Dok držite bočicu s otopinom za rekonstituciju na radnoj površini, čvrsto umetnite drugi kraj prstena za rekonstituciju u otvor bočice s otopinom za rekonstituciju (Slika 1, korak 2).
 - g. Polako preokrenite sastavljene bočice. Ostavite otopinu da se iscijedi iz bočice s otopinom za rekonstituciju u staklenu bočicu (Slika 1, korak 3).
 - h. Otopinu u bočici nježno protresite kružnim pokretima kako biste je promiješali. Izbjegavajte stvaranje pjene dok bočicu tresete kružnim pokretima (Slika 1, korak 4).
 - i. Pričekajte najmanje 15 minuta da liofilizirani reagens uđe u otopinu, a zatim ponovno preokrenite sastavljene bočice uz nagib pod kutom od 45° kako biste smanjili stvaranje pjene (Slika 1, korak 5). Pričekajte da se sva tekućina iscijedi natrag u bočicu otopine za rekonstituciju.
 - j. Uklonite prsten za rekonstituciju i staklenu bočicu (Slika 1, korak 6).

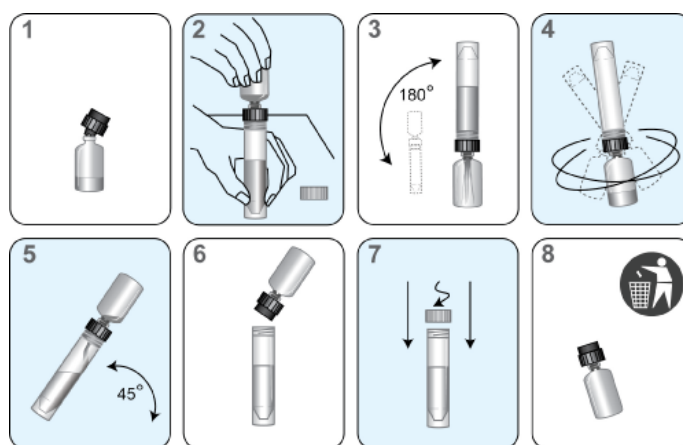
k. Ponovno zatvorite plastičnu bočicu sačuvanim, označenim čepom koji odgovara reagensu ili novim čepom. Pazite da ne zamijenite čepove. Zabilježite inicijale rukovatelja i datum rekonstitucije na naljepnici (Slika 1, korak 7).

l. Odložite prsten za rekonstituciju i staklenu bočicu u otpad (Slika 1, korak 8).

Opcija: dopušteno je dodatno miješanje amplifikacijskog, enzimskog i promotorskog reagensa pomoću klackalice za epruvete. Reagensi se mogu miješati stavljanjem ponovno zatvorene plastične bočice na klackalicu za epruvete postavljenu na 20 okretaja u minuti (ili ekvivalentno) na najmanje 5 minuta.

Upozorenje: *izbjegavajte stvaranje pjene prilikom rekonstitucije reagensa. Pjena ometa mjerenje razine u sustavu Panther.*

Upozorenje: *za postizanje očekivanih rezultata testa potrebno je temeljito miješanje reagensa.*



Slika 1. Postupak rekonstitucije reagensa

2. Pripremite radni reagens za ciljno izdvajanje (wTCR)

- Uparite odgovarajuće bočice TCR-a i IC-a.
- Provjerite brojeve serija reagensa na listu crtičnih kodova osnovne serije kako biste se uvjerali da ste uparili odgovarajuće reagense u kompletu.
- Otvorite bočicu TCR-a i čep stavite na čistu, prekrivenu radnu površinu.
- Otvorite bocu IC-a i cijeli njezin sadržaj ulijte u bocu TCR-a. Očekujte da će vam u bočici IC-a ostati mala količina tekućine.
- Začepite bočicu i otopinu nježno protresite kružnim pokretima kako biste promiješali sadržaj. Izbjegavajte stvaranje pjene tijekom ovog koraka.
- Na oznaku zabilježite inicijale korisnika i aktualni datum.
- Bočicu IC-a i čep odložite u otpad.

C. Priprema reagensa za prethodno pripremljene reagense

- Prethodno pripremljeni amplifikacijski, enzimski i promotorski reagensi moraju doseći sobnu temperaturu (od 15 °C do 30 °C) prije početka testa.

Opcija: dopušteno je dodatno miješanje amplifikacijskog, enzimskog i promotorskog reagensa pomoću klackalice za epruvete. Reagensi se mogu miješati stavljanjem ponovno zatvorene plastične bočice na klackalicu za epruvete postavljenu na 20 okretaja u minuti (ili ekvivalentno) na najmanje 25 minuta.

2. Ako wTCR sadržava talog, zagrijte ga na temperaturu od 42 °C do 60 °C u trajanju od 90 minuta. Prije uporabe wTCR ostavite da dosegne sobnu temperaturu. Nemojte upotrebljavati ako je talog i dalje prisutan.
3. Provjerite da reagensi nisu premašili vrijeme stabilnosti skladištenja, uključujući stabilnost na uređaju.
4. Prije postavljanja na sustav svaki reagens temeljito promiješajte nježnim preokretanjem. Izbjegavajte stvaranje pjene prilikom preokretanja reagensa. Ovaj korak nije potreban ako se reagensi stavljaju u sustav neposredno nakon miješanja na klackalici za epruvete.
5. Bočice s reagensom nemojte puniti do vrha. Sustav Panther prepoznat će i odbiti bočice koje su napunjene do vrha.

Upozorenje: za postizanje očekivanih rezultata testa potrebno je temeljito miješanje reagensa.

D. Rukovanje ispitkom

1. Vizualno provjerite ispunjava li svaka epruveta s ispitkom jedan od sljedećih kriterija:
 - a. Prisutnost jednog ružičastog štapića za prikupljanje Aptima u epruveti za prikupljanje ispitaka brisa Aptima Multitest.
 - b. Odsutnost štapića u epruveti za prijenos ispitaka Aptima za VTM ispitke.
2. Prije obrade kontrole i ispitke ostavite da dosegnu sobnu temperaturu.

Napomena: prije testiranja i/ili radi rješavanja sumnje na nevaljane rezultate povezane s ispitkom ispitci se mogu miješati vorteks miješalicom pri velikoj brzini najmanje 3 minute, nakon čega slijedi miješanje na vorteks miješalici pri maloj brzini 1 minutu (kako bi se tekućina povukla u epruvetu).

3. Pregledajte epruvete s ispitcima prije postavljanja u stalak:
 - a. Ako epruveta s ispitkom sadržava mjehuriće u prostoru između tekućine i čepa, centrifugirajte epruvetu 5 minuta na 420 RCF radi uklanjanja mjehurića.
 - b. Ako epruveta s ispitkom ima manji volumen od uobičajenog kada su se slijedile upute za prikupljanje, centrifugirajte epruvetu 5 minuta na 420 RCF kako biste bili sigurni da u čepu nema tekućine.

Napomena: nepridržavanje koraka 3a – 3b može dovesti do istjecanja tekućine iz čepa epruvete s ispitkom.

Napomena: iz svake epruvete s ispitkom može se testirati do 5 odvojenih alikvota. Pokušaji pipetiranja više od 5 alikvota iz epruvete s ispitkom mogu dovesti do pogrešaka u obradi.

E. Priprema sustava

1. Sustav postavite u skladu s uputama u *Priručniku za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion* i *Napomene o postupku*.

Napomena: pobrinite se da se upotrebljavaju stalci za reagense i adapteri za TCR odgovarajuće veličine.

2. Postavite uzorke.

Napomene o postupku

A. Kontrole

1. Epruvete pozitivne i negativne kontrole mogu se umetnuti u bilo koji položaj stalka ili u bilo koju traku odjeljka za uzorke na sustavu Panther. Pipetiranje ispitka započet će kada se zadovolji jedan od sljedeća 2 uvjeta:
 - a. Sustav trenutačno obrađuje kontrole.
 - b. U sustav su registrirani važeći rezultati za kontrole.
2. Kada se kontrolne epruvete pipetiraju i obrade za određeni komplet reagensa, ispiti pacijenta mogu se testirati s pomoću pridruženog kompleta do 24 sata, **osim u sljedećim slučajevima:**
 - a. Rezultati kontrole nisu valjani.
 - b. Pridruženi komplet analitičkog reagensa uklanja se iz sustava.
 - c. Pridruženi komplet analitičkog reagensa premašio je granice stabilnosti.
3. Svaku kontrolnu epruvetu možete testirati samo jednom. Pokušaji pipetiranja više od jednom iz epruvete mogu dovesti do pogrešaka pri obradi.

B. Temperatura

Sobna temperatura definirana je kao temperatura od 15 °C do 30 °C.

C. Puder iz rukavica

Kao i kod svakog drugog sustava reagensa, višak pudera na nekim rukavicama može uzrokovati kontaminaciju otvorenih epruveta. Preporučuje se uporaba rukavica bez pudera.

Kontrola kvalitete

A. Kriteriji valjanosti obrade

Softver automatski određuje valjanost obrade. Softver će poništiti obradu ako jedna ili obje kontrole (negativna i pozitivna) imaju nevaljane rezultate.

Obradu može poništiti korisnik ako tijekom provođenja ispitivanja uoči i zabilježi tehničke poteškoće, poteškoće pri rukovanju ili poteškoće vezane uz instrument.

Nevažeća obrada mora se ponoviti.

B. Valjanost kontrole

Tablica 1 definira kriterije valjanosti vremena granične vrijednosti (TTime) za negativne i pozitivne kontrole.

Tablica 1: Kriteriji valjanosti vremena granične vrijednosti (TTime)

	Vrijeme granične vrijednosti za IC	Vrijeme granične vrijednosti za HSV-1	Vrijeme granične vrijednosti za HSV-2
Negativna kontrola	$\geq 7,0$ i $\leq 40,0$	–	–
Pozitivna kontrola	$\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 35,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 35,0$

Napomena: uzorci vanjske kontrole kvalitete (nisu priloženi) trebaju se testirati u skladu s lokalnim, državnim i/ili saveznim propisima ili zahtjevima za akreditaciju i standardnim postupcima kontrole kvalitete svakog laboratorija.

Napomena: za pomoć s kontrolama izvan raspona obratite se tehničkoj podršci društva Hologic.

Napomena: kada se vrijeme granične vrijednosti ne može izračunati, prikazat će se crtica (–).

Tumačenje testa

Softver automatski određuje rezultate testa. Rezultati za otkrivanje HSV-1 i HSV-2 prikazani su odvojeno. Tablica 2 prikazuje moguće rezultate prijavljene u valjanom ciklusu i tumačenje rezultata. Prvi valjani rezultat je rezultat koji treba prijaviti. Uzorke s nevaljanim rezultatima testa treba ponovno testirati. Ako je rezultat nevaljan nakon ponovnog testiranja, treba prikupiti novi ispitak.

Tablica 2: Tumačenje rezultata

Rezultat za HSV-1	Rezultat za HSV-2	Tumačenje
HSV1 neg	HSV2 neg	Negativan: nije otkrivena mRNK HSV-1 ili HSV-2
HSV1 neg	HSV2 POS	HSV-2 pozitivan: otkrivena mRNK HSV-2
HSV1 POS	HSV2 neg	HSV-1 pozitivan: otkrivena mRNK HSV-1
HSV1 POS	HSV2 POS	HSV-1 i HSV-2 pozitivan: otkrivena mRNK HSV-1 i HSV-2
Nevaljano	Nevaljano	Nevaljano: došlo je do pogreške u generiranju rezultata. Potrebno je ponovo testirati ispitak.

Tablica 3 prikazuje kriterije vremena granične vrijednosti za određivanje rezultata za određeni ispitak. Test može biti nevaljan i zbog toga što su drugi parametri izvan očekivanog raspona.

Tablica 3: Kriteriji vremena granične vrijednosti (TTime)

	Vrijeme granične vrijednosti za IC	Vrijeme granične vrijednosti za HSV-1	Vrijeme granične vrijednosti za HSV-2
Negativan	$\geq 7,0$ i $\leq 45,0$	–	–
HSV1 pozitivan	- ili $\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$	–
HSV2 negativan			
HSV1 negativan	- ili $\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	–	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$
HSV2 pozitivan			
HSV1 pozitivan	- ili $\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$
HSV2 pozitivan			
Nevaljano	–	–	–

Napomena: kada se vrijeme granične vrijednosti ne može izračunati, prikazat će se crtica (–).

Ograničenja

- A. Uporaba ovog testa ograničena je na osoblje koje je obučeno za postupak. Neuspješno praćenje uputa navedenih u ovoj uputi u pakiranju može rezultirati pogrešnim rezultatima.
- B. Pouzdani rezultati ovise o primjerenom prikupljanju, prijenosu, skladištenju i obradi ispitaka.
- C. Proizvod nije namijenjen za upotrebu s cerebrospinalnom tekućinom ili za prenatalni probir.
- D. Rezultate testa Aptima HSV 1 & 2 treba tumačiti zajedno s drugim kliničkim podacima dostupnima kliničaru.
- E. Negativan rezultat testa Aptima HSV 1 & 2 ne isključuje moguću infekciju jer rezultati ovise o adekvatnom prikupljanju ispitka. Na rezultate testa mogu utjecati nepravilno prikupljanje ispitaka, tehnička pogreška, klinički stadij uzorkovane lezije ili ciljne razine ispod granice otkrivanja testa.

Analitička učinkovitost testa na sustavu Panther

Medij za prijenos virusa (VTM)

Učinkovitost testa Aptima HSV 1 & 2 procijenjena je uobičajeno korištenim vrstama VTM-a (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 i Remel M5). U svaki medij zasebno su dodane virusne čestice soja HSV-1 MacIntyre ili soja HSV-2 MS u koncentraciji od ~3X granice otkrivanja (LoD). Svaki panel zatim je prenesen prema uputama u uputi za STM. Kako bi se procijenila potencijalna interferencija različitih vrsta VTM-a, HSV-negativni (neobogaćeni) paneli također su razrijeđeni u STM-u i testirani u 40 replikata po panelu. Svi negativni paneli bili su 100 % valjani i negativni, a svi paneli s dodanim HSV-1 ili HSV-2 bili su 100 % pozitivni na odgovarajući tip HSV-a.

Analitička osjetljivost

Analitička osjetljivost/LoD testa Aptima HSV 1 & 2 određena je testiranjem serije panela koji se sastoje od virusa HSV-1 ili HSV-2 razrijeđenog u skupnim negativnim kliničkim ispitcima u STM-u i VTM-u razrijeđenom u matricama na bazi STM-a. Za HSV-1 testirani su virusni sojevi MacIntyre i HF. Za HSV-2 testirani su sojevi MS i G. Najmanje 60 replikata testirano je pri svakoj koncentraciji za svaku sastavnicu panela za svaku matricu i soj virusa u 3 serije reagensa.

Provedena je probit regresijska analiza kako bi se dobila predviđena granica otkrivanja od 95 % za svaki soj HSV-a u svakoj matrici u svakoj seriji. LoD je određen kao koncentracija pri kojoj se postiže ≥ 95 % pozitivnosti testiranih replikata na temelju najvećeg izračuna među 3 serije reagensa.

Tablica 4: LoD za HSV 1 i 2 u VTM-u i STM-u

Vrsta/soj HSV-a	Vrsta ispitka	LoD
		TCID ₅₀ /mL (95-postotna pouzdanost)
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)

Provjera LoD-a

LoD je provjeren korištenjem 2 klinička izolata HSV-1 i 2 klinička izolata HSV-2 koji su izolirani iz HSV-pozitivnih kliničkih ispitaka te kultivirani i kvantificirani interno. Svaki izolat testiran je testom Aptima HSV 1 & 2 korištenjem 60 replikata, svaki pri 1X LoD, 3X LoD i 10X LoD. Testiranje je provedeno i u STM i u VTM matrici za sva 4 klinička izolata i korištenjem 3 serije reagensa. Test Aptima HSV 1 & 2 otkrio je sve replikate za sve kliničke izolate pri sve 3 testirane koncentracije, što pokazuje da test može točno otkriti niz izolata HSV-1 i HSV-2 pri određenoj vrijednosti LoD.

Koinfekcija

Paneli su sastavljeni od virusnih čestica HSV-1 pri 3X LoD i virusa HSV-2 pri 1000X LoD te od HSV-2 pri 3X LoD i HSV-1 pri 1000X LoD. Dodatni paneli izrađeni su s HSV-2 u koncentraciji od 100 puta većoj od HSV-1 pri 3X LoD. Sva su testiranja rezultirala 100-postotnim otkrivanjem i HSV-1 i HSV-2.

Križna reaktivnost

Kako bi se procijenila analitička osjetljivost i specifičnost testa Aptima HSV 1 & 2 u prisutnosti neciljanih mikroorganizama koji bi mogli biti prisutni u kliničkim ispitcima, paneli neciljanih mikroorganizama sastavljeni su u STM-u do testne koncentracije od 1×10^5 jedinica/mL za viruse i 1×10^6 jedinica/mL za sve ostale organizme. Organizmi su testirani u odsutnosti HSV-a ili u prisutnosti HSV-1 ili HSV-2 pri 3X LoD. Četrdeset sedam od 48 testiranih mikroba nije imalo utjecaja na učinkovitost testa pri 1×10^5 jedinica/mL; *Streptococcus pneumoniae* nije pokazao interferenciju pri 1×10^5 jedinica/mL (Tablica 5).

Tablica 5: Analitička specifičnost

Mikroorganizam	Koncentracija
<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 RNK kopija/mL ²
Adenovirus tipa 1	1×10^5 TCID50/mL ³
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1×10^6 CFU/mL ¹
<i>Atopobium vaginae</i>	1×10^6 RNK kopija/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 virus	1×10^5 DNK kopija/mL ³
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Candida glabrata</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Clostridium difficile</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Clostridium perfringens</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Enterococcus faecium</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
Epstein-Barrov virus	1×10^5 DNK kopija/mL ³
<i>Escherichia coli</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}

Tablica 5: Analitička specifičnost (nastavak)

Mikroorganizam	Koncentracija
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
Virus hepatitisa B	1×10^5 IU/mL ^{4,3}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Mycoplasma hominis</i>	1×10^6 RNK kopija/mL ²
<i>Mycoplasma orale</i>	1×10^6 RNK kopija/mL ²
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Neisseria meningitidis</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
Parvovirus B19	1×10^5 TCID50/mL ³
<i>Prevotella bivia</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Propionibacterium acnes</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Proteus mirabilis</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Proteus vulgaris</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Staphylococcus aureus</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Streptococcus mitis</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.000 CFU/mL ^{1,2}
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1×10^6 CFU/mL ^{1,2}
Virus Varicella-zoster	1×10^5 DNK kopija/mL ³
Virus Zapadnog Nila	1×10^5 TCID50/mL ³

¹ CFU = jedinice koje stvaraju kolonije (engl. *colony forming units*).² Nabavljeno interno od društva Hologic, Inc.³ Dobiveno od društva ZeptoMetrix Corporation (Buffalo, NY).⁴ IU = međunarodne jedinice.

Interferencija

Potencijalno interferirajuće tvari navedene u Tablica 6 testirane su testom Aptima HSV 1 & 2 pri početnim koncentracijama od 5 % vol/vol (V/V), što je ekvivalentno 100 % kapaciteta brisa (engl. *swab capacity*, SC); ili pri koncentracijama od 0,03 % ili 5 % wt/vol (W/V); ili pri 4×10^5 stanica/mL za leukocite. Paneli su izrađeni u STM-u i procijenjeni s obzirom na potencijalne učinke na osjetljivost i specifičnost testa. Učinkovitost osjetljivosti zasebno je procijenjena za HSV-1 i HSV-2 dodavanjem virusnih čestica u panele koji su sadržavali tvari u koncentraciji od 3X LoD. HSV-negativni paneli koji sadržavaju svaku tvar također su procijenjeni na specifičnost.

Nije uočen učinak na učinkovitost testa u prisutnosti reprezentativnog brenda sljedećih egzogenih tvari u koncentraciji od 5 % W/V ili V/V (100 % SC): vaginalni lubrikant; krema protiv gljivica; irigator; ženski sprej; lijek protiv herpesa; balzam za usne; losion za tijelo; puder za tijelo; otopina za ispiranje s ledenom octenom kiselinom; krema za hemoroide; sredstvo za suzbijanje kašlja; pasta za zube; i vodica za ispiranje usta. Spermicidni/kontracepcijski gel nije izazvao interferenciju pri koncentraciji od 4 % W/V ili 80 % SC. Nije uočena interferencija u prisutnosti reprezentativnog brenda antivirusnog lijeka pri 5 % W/V. Nije uočen učinak na učinkovitost testa kod sljedećih endogenih tvari testiranih pri 5 % V/V ili W/V (100 % SC): urin, sluz i sjemena tekućina. Nije uočena interferencija u sljedećim endogenim tvarima pri navedenim konačnim koncentracijama: leukociti (4×10^5 stanica/mL); slina (4 % W/V / 80 % SC); proteini (4 % W/V / 80 % SC); puna krv (0,5 % V/V / 10 % SC); i stolica (0,03 % W/V / 0,6 % SC).

Tablica 6: Interferirajuće tvari

Tvar	Brend/izvor	Konačna koncentracija*
Vaginalni lubrikant	KY gel	5 % V/V
Spermicidni/kontracepcijski gel	Options Gynol II	4 % W/V
Krema protiv gljivica	Monistat 3	5 % W/V
Irigator	Ženski gel za pranje Up & Up	5 % V/V
Ženski sprej	FDS, ženski dezodorans u spreju	5 % W/V
Lijek za herpes	Releev	5 % W/V
Balzam za usne	Carmex	5 % W/V
Losion za tijelo	Vaseline Aloe Fresh	5 % W/V
Puder	Summer's Eve, puder	5 % W/V
Otopina za ispiranje s ledenom octenom kiselinom	otopina za ispiranje s ledenom octenom kiselinom	5 % V/V
Krema za hemoroide	Preparation H	5 % W/V
Urin	Interno prikupljanje urina	5 % V/V
Puna krv	Interno prikupljanje pune krvi	0,5 % V/V
Leukociti	Leukociti Biological Specialty Corporation	4×10^5 stanica/mL
Slina	Interno prikupljanje sline	4 % W/V
Sluz	Mucin Sigma Aldrich	0,3 % W/V
Sjemena tekućina	Sjemena tekućina	5 % V/V
Stolica	Stolica	0,03 % W/V
Sredstvo za suzbijanje kašlja	Dayquil	5 % V/V
Pasta za zube	Sensodyne	5 % W/V
Protein	Kazein	4 % W/V
Antivirusni lijek	Aciklovir	5 % W/V
Vodica za ispiranje usta	Listerine	5 % V/V

*Konačne koncentracije predstavljaju konačnu koncentraciju (FC) u uzorku prilikom testiranja na instrumentu Panther. U pogledu SC-a prikupljanja, 5 % FC = 100 % SC; 4 % FC = 80 % SC; 0,5 % FC = 10 % SC; 0,03 % FC = 0,6 % SC.

Obnovljivost

Obnovljivost testa Aptima HSV 1 & 2 testa procijenjena je u 3 vanjska centra u SAD-u. Testiranje je provedeno uporabom 3 serije reagensa za test i 6 rukovatelja (po 2 u svakom centru). U svakom centru testiranje se provodilo najmanje 6 dana. Sastavnice panela dobivene su dodavanjem virusnih čestica HSV-1 i/ili HSV-2 u STM. Konačne koncentracije HSV-1 kretale su se od 0 TCID₅₀/mL do 86,96 TCID₅₀/mL, a konačne koncentracije HSV-2 kretale su se od 0 TCID₅₀/mL do 1,63 TCID₅₀/mL.

Robusnost testa Aptima HSV 1 & 2 procijenjena je testiranjem HSV-negativnih sastavnica panela i sastavnica panela koji sadržavaju niske i umjerene razine HSV-1 i HSV-2. Slaganje s očekivanim rezultatima bilo je 100 % za HSV-1 i HSV-2 kod negativnih i umjereno pozitivnih sastavnica panela te ≤ 100 % kod sastavnica panela s koncentracijama blizu ili ispod 95 % LoD-a testa u STM-u obogaćenom virusnim česticama.

Tablica 7 pokazuje slaganje rezultata testa Aptima HSV 1 & 2 s očekivanim rezultatima za sve sastavnice panela.

Tablica 7: Slaganje rezultata testa Aptima HSV 1 & 2 s očekivanim rezultatima

Konc.		Ciljna koncentracija (TCID ₅₀ /mL)		Očekivani rezultat		N	Slaganje (n)		Slaganje (%) (95-postotni 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 pouzdanosti rezultata, Konc. = koncentracija, HNeg = visoko negativno, LPos = nisko pozitivno, MPos = umjereno pozitivno, Neg = negativno, Pos = pozitivno.

Tablica 8 prikazuje varijabilnost signala HSV-1 i HSV-2 kod nisko i umjereno pozitivnih sastavnica panela između centara, između rukovatelja, između serija, između dana, između

ciklusa, unutar ciklusa i ukupno kod sastavnica panela s pozitivnim rezultatima testa Aptima HSV 1 & 2.

Tablica 8: Varijabilnost signala testa Aptima HSV 1 & 2 kod sastavnica panela s niskim i umjerenim pozitivnim rezultatima

Virus	Konc.	N	Srednja vrijednos t	Između centara	Između rukovatelja	Između serija	Između dana	Između ciklusa	Unutar ciklusa	Ukupno
			Vrijeme granične vrijednos ti	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)
HSV-1	LPos	103	24,68	0 (0)	0,23 (0,95)	1,63 (6,62)	0,71 (2,89)	0,54 (2,18)	0,88 (3,55)	2,07 (8,40)
	LPos	97	23,91	0 (0)	0 (0)	2,18 (9,11)	0,86 (3,58)	0 (0)	1,60 (6,71)	2,84 (11,87)
	MPos	108	22,96	0 (0)	0,22 (0,97)	1,54 (6,69)	0,31 (1,34)	0,68 (2,96)	0,94 (4,11)	1,96 (8,55)
HSV-2	LPos	105	25,49	0 (0)	0,70 (2,74)	0,84 (3,30)	0 (0)	0 (0)	2,52 (9,87)	2,74 (10,76)
	LPos	108	25,34	0 (0)	0 (0)	1,54 (6,08)	0,86 (3,41)	0,59 (2,34)	2,67 (10,53)	3,26 (12,85)
	MPos	108	22,91	0 (0)	0 (0)	1,09 (4,76)	0,35 (1,53)	0,42 (1,83)	1,06 (4,64)	1,62 (7,07)

Konc. = koncentracija, CV = koeficijent varijacije, LPos = nisko pozitivno, MPos = umjereno pozitivno, SD = standardna devijacija.

Napomena: varijabilnost izazvana nekim čimbenicima može biti brojčano negativna. To se može dogoditi ako je varijabilnost zbog tih čimbenika vrlo mala. U tim se slučajevima SD i CV prikazuju kao 0.

Učinkovitost HSV-2 u umjetno dobivenoj oralnoj kliničkoj matrici

Testiranje testom Aptima HSV 1 & 2 provedeno je korištenjem matrice s umjetno dobivenim kliničkim ispitanicima kako bi se osigurali dodatni podaci o učinkovitosti za otkrivanje HSV-2 u oralnim uzorcima. Virusne čestice soja HSV-2 MS dodane su u HSV-negativne VTM ili STM oralne kliničke matrice pri 3X LoD ili 1000X LoD za svaki medij. Petnaest replikata HSV-negativnih uzoraka, dvadeset pet replikata HSV-2 pri 3X LoD i dvadeset pet replikata HSV-2 pri 1000X LoD za VTM i STM matrice testirali su rukovatelji koji nisu bili upoznati sa sadržajem panela. Rezultati su pokazali 100-postotno otkrivanje pozitivnih umjetno dobivenih oralnih panela koji sadržavaju HSV-2 i 0 % otkrivanja u svim negativnim uzorcima u STM i VTM kliničkim matricama.

Klinička učinkovitost testa na sustavu Panther

Klinička učinkovitost

Provedena je prospektivna, multicentrična klinička studija kako bi se utvrdile značajke učinkovitosti testa Aptima HSV 1 & 2. Muški i ženski ispitanici (n = 839) s aktivnim kožnim lezijama u anogenitalnoj¹ ili oralnoj² regiji uključeni su iz 19 kliničkih centara u SAD-u, uključujući centre za planiranje obitelji, dermatologiju, pedijatriju/adolescenciju, spolno prenosive infekcije, privatnu praksu, klinike javnog zdravstva, bolnice, sveučilišta i centre za klinička ispitivanja. Od svakog ispitanika prikupljena su dva (2) ispitka brisa s jedne lezije: jedan je uzet brisom iz komercijalno dostupnog kompleta za prikupljanje u VTM, a jedan je uzet brisom iz kompleta za prikupljanje ispitaka brisa Aptima Multitest. Ispitci su obrađeni u skladu s odgovarajućim uputama u uputi i testirani virusnom kulturom sustava ELVIS HSV ID i D³ Typing Test i validiranim dvosmjernim PCR-om / postupkom sekvenciranja za uspostavljanje tumačenja kompozitne referentne metode za HSV-1 i HSV-2. Razmatrano je tumačenje kompozitne referentne metode: A) pozitivan ako su virusna kultura sustava ELVIS HSV ID i D³ Typing Test ili PCR/sekvenciranje imali pozitivan rezultat za tip HSV-a (HSV-1 ili HSV-2) i B) negativan ako je PCR/sekvenciranje imalo negativan rezultat za jedan tip HSV-a, a virusna kultura sustava ELVIS HSV ID i D³ Typing Test je imala negativan rezultat (ili pozitivan rezultat za drugi tip HSV-a³). Ispitci su testirani testom koji je odobrila Američka agencija za hranu i lijekove (FDA) za HSV-1 i HSV-2 kako bi se razjasnio tip HSV-a kada: A) su PCR/sekvenciranjem otkriveni i HSV-1 i HSV-2 i B) kombinirani rezultati testova kompozitne referentne metode bili su pozitivni za oba tipa HSV-a.

Klinička učinkovitost testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-1 i HSV-2 procijenjena je u ispiscima/uzorcima prikupljenima iz lezija u anogenitalnoj i oralnoj regiji. Testiranje testom Aptima HSV 1 & 2 provedeno je u 3 vanjska laboratorija. Generirano je 108 ciklusa testova Aptima HSV 1 & 2; 107 (99,1 %) ciklusa bilo je valjano, a 1 ciklus (0,9 %) bio je nevaljan zbog hardverske pogreške. U valjanim ciklusima testa Aptima HSV 1 & 2 obrađeno je 1629 uzoraka; 1628 (99,9 %) imalo je konačne valjane rezultate, a 1 (0,1 %) imao je konačni nevaljani rezultat zbog hardverske pogreške (taj uzorak nije ponovno testiran jer nije imao dovoljan volumen). Bilo je 7 uzoraka (0,4 %) koji su imali početne nevaljane rezultate; od njih je 6 ponovno testirano i imalo je valjane rezultate.

Ukupno je 790 ispitanika (285 muškaraca i 505 žena) bilo moguće procijeniti radi uključivanja u analize učinkovitosti; 544 je imalo lezije u anogenitalnoj regiji, a 246 lezije u oralnoj regiji.

Ukupno, za otkrivanje HSV-1 i HSV-2 u ispiscima/uzorcima prikupljenima iz lezija u anogenitalnoj regiji, osjetljivost se kretala od 93,4 % do 98,4 %, a specifičnost od 92,8 % do 99,8 % (Tablica 9 i Tablica 10).

1 Uključuje abdomen, anus, stražnjicu, cerviks, kožicu, glavić penisa / glans, prepone, mons pubis, penis (osovina penisa), perianalno područje, perineum, rektum, skrotum, bedro, mokraćnu cijev / uretralni otvor, vaginu, područje vulve i ostalo.

2 Uključuje desni, usne, usta, jezik i ostalo.

3 Sustavi ELVIS HSV ID i D³ Typing Test ne mogu otkriti koinficirane ispitke. Samo ispitci negativni na HSV-2 mogu se tipizirati za HSV-1.

Tablica 9 prikazuje osjetljivost, specifičnost, pozitivnu prediktivnu vrijednost (PPV) i negativnu prediktivnu vrijednost (NPV) testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-1 i prevalenciju HSV-1 (na temelju kompozitne referentne metode) u anogenitalnim lezijama za svaku vrstu ispitka.

Tablica 9: Klinička učinkovitost testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-1 u anogenitalnim lezijama prema vrsti ispitka

Vrsta ispitka	Mjesto lezije	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Osjetljivost % (95-postotni CI) ³	Specifičnost % (95-postotni CI) ³	PPV % (95-postotni CI) ⁴	NPV % (95-postotni CI) ⁴
VTM	Anogenitalni	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)
	Muški anogenitalni	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)
	Ženski anogenitalni	336	52	0	281	3	16,4	94,5 (85,1 – 98,1)	100 (98,7 – 100)	100 (93,7 – 100)	98,9 (97,1 – 99,8)
STM brisa Aptima	Anogenitalni	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)
	Muški anogenitalni	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)
	Ženski anogenitalni	339	51	0	285	3	15,9	94,4 (84,9 – 98,1)	100 (98,7 – 100)	100 (93,6 – 100)	99,0 (97,2 – 99,8)

STM brisa Aptima = ispitak brisa Aptima Multitest, Prev = prevalencija, VTM = uzorak u VTM-u.

¹ Dva (2) uzorka imala su negativne rezultate kulture, a 1 je imao HSV-pozitivan rezultat kulture koji se nije mogao tipizirati.

² Jedan (1) ispitak imao je negativan rezultat kulture, a 1 je imao HSV-pozitivan rezultat kulture koji se nije mogao tipizirati.

³ CI rezultata.

⁴ PPV s 95-postotnim CI-om izračunan iz točnog 95-postotnog CI-a za pozitivni omjer vjerojatnosti, NPV s 95-postotnim CI-om izračunan iz točnog 95-postotnog CI-a za negativni omjer vjerojatnosti.

Tablica 10 prikazuje osjetljivost, specifičnost, PPV i NPV testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-2 i prevalenciju HSV-2 (na temelju kompozitne referentne metode) u anogenitalnim lezijama za svaku vrstu ispitka.

Tablica 10: Klinička učinkovitost testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-2 u anogenitalnim lezijama prema vrsti ispitka

Vrsta ispitka	Mjesto lezije	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Osjetljivost % (95-postotni CI) ³	Specifičnost % (95-postotni CI) ³	PPV % (95-postotni CI) ⁴	NPV % (95-postotni CI) ⁴
VTM	Anogenitalni	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)
	Muški anogenitalni	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)
	Ženski anogenitalni	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)

Tablica 10: Klinička učinkovitost testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-2 u anogenitalnim lezijama prema vrsti ispitka

Vrsta ispitka	Mjesto lezije	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Osjetljivost % (95-postotni CI) ³	Specifičnost % (95-postotni CI) ³	PPV % (95-postotni CI) ⁴	NPV % (95-postotni CI) ⁴
	Anogenitalni	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)
STM brisa Aptima	Muški anogenitalni	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)
		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)
	Ženski anogenitalni										

STM brisa Aptima = ispitak brisa Aptima Multitest, Prev = prevalencija, VTM = uzorak u VTM-u.

¹ Svih 8 uzoraka imalo je negativne rezultate kulture.

² Sva 4 ispitka imala su negativne rezultate kulture.

³ CI rezultata.

⁴ PPV s 95-postotnim CI-om izračunan iz točnog 95-postotnog CI-a za pozitivni omjer vjerojatnosti, NPV s 95-postotnim CI-om izračunan iz točnog 95-postotnog CI-a za negativni omjer vjerojatnosti.

Tablica 11 prikazuje osjetljivost, specifičnost, PPV i NPV testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-1 i prevalenciju HSV-1 (na temelju kompozitne referentne metode) u oralnim lezijama za svaku vrstu ispitka. Osjetljivost za otkrivanje HSV-1 u ispitcima/uzorcima prikupljenima iz oralne regije bila je 97,5 % u ispitcima brisa Aptima Multitest i 81,5 % u uzorcima u VTM-u. Od 22 uzorka u VTM-u s lažno negativnim rezultatima za HSV-1, 19 uzoraka imalo je negativne rezultate kulture. Specifičnost za otkrivanje HSV-1 bila je 88,7 % u ispitcima brisa Aptima Multitest i 99,2 % u uzorcima u VTM-u. Devet (9) od 14 ispitaka brisa Aptima Multitest s lažno pozitivnim rezultatima bilo je iz 2 od 17 centara za prikupljanje koji su prikupljali ispitke iz oralne regije.

Tablica 11: Klinička učinkovitost testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-1 u oralnim lezijama prema vrsti ispitka

Vrsta ispitka	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Osjetljivost % (95-postotni CI) ³	Specifičnost % (95-postotni CI) ³	PPV % (95-postotni CI) ⁴	NPV % (95-postotni 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)
STM brisa Aptima	243	116	14	110	3 ²	49,0	97,5 (92,8 – 99,1)	88,7 (81,9 – 93,2)	89,2 (83,9 – 93,5)	97,3 (93,1 – 99,4)

STM brisa Aptima = ispitak brisa Aptima Multitest, Prev = prevalencija, VTM = uzorak u VTM-u.

¹ Devetnaest uzoraka imalo je negativne rezultate kulture, a 1 je imao HSV-pozitivan rezultat kulture koji se nije mogao tipizirati.

² Sva 3 ispitka imala su negativne rezultate kulture.

³ CI rezultata.

⁴ PPV s 95-postotnim CI-om izračunan iz točnog 95-postotnog CI-a za pozitivni omjer vjerojatnosti, NPV s 95-postotnim CI-om izračunan iz točnog 95-postotnog CI-a za negativni omjer vjerojatnosti.

Budući da većinu oralnih infekcija HSV-om uzrokuje HSV-1, prevalencija infekcija virusom HSV-2 uočena u oralnoj regiji bila je vrlo niska (od 0,9 % do 1,3 %) (Tablica 12). Od 235 uzoraka u VTM-u i 237 ispitaka brisa Aptima Multitest, samo 2 uzorka u VTM-u i 3 ispitka brisa Aptima Multitest imala su pozitivne rezultate na temelju referentnog testiranja. Osjetljivost za otkrivanje

HSV-2 u ispitcima/uzorcima prikupljenima iz oralne regije bila je 66,7 % u ispitcima brisa Aptima Multitest i 100 % u uzorcima u VTM-u. Jedan ispitak brisa Aptima Multitest uzet iz oralne lezije s lažno negativnim rezultatom imao je negativan rezultat kulture. Kako je prethodno opisano, analitička osjetljivost za otkrivanje HSV-2 korištenjem umjetno dobivenih oralnih ispitaka bila je 100 %. Specifičnost za otkrivanje HSV-2 bila je 100 % u ispitcima brisa Aptima Multitest i 100 % u uzorcima u VTM-u.

Tablica 12 prikazuje osjetljivost, specifičnost, PPV i NPV testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-2 i prevalenciju HSV-2 (na temelju kompozitne referentne metode) u oralnim lezijama za svaku vrstu ispitka.

Tablica 12: Klinička učinkovitost testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-2 u oralnim lezijama prema vrsti ispitka

Vrsta ispitka	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Osjetljivost % (95-postotni CI) ²	Specifičnost % (95-postotni CI) ²	PPV % (95-postotni CI) ³	NPV % (95-postotni 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)
STM brisa Aptima	237	2	0	234	1 ¹	1,3	66,7 (20,8 – 93,9)	100 (98,4 – 100)	100 (29,1 – 100)	99,6 (98,9 – 100)

STM brisa Aptima = ispitak brisa Aptima Multitest, Prev = prevalencija, VTM = uzorak u VTM-u.

¹ Ovaj uzorak imao je negativan rezultat kulture.

² CI rezultata.

³ PPV s 95-postotnim CI-om izračunan iz točnog 95-postotnog CI-a za pozitivni omjer vjerojatnosti, NPV s 95-postotnim CI-om izračunan iz točnog 95-postotnog CI-a za negativni omjer vjerojatnosti.

Referentni raspon i očekivane vrijednosti

Prevalencija

Prevalencija HSV-1 i HSV-2 u različitim populacijama ovisi o čimbenicima rizika pacijenta kao što su dob, način života i osjetljivost testa u otkrivanju infekcije. Sažetak prevalencije HSV-1 i HSV-2, prema vrsti ispitka i dobnoj skupini, kako je određeno testom Aptima HSV 1 & 2 u studiji kliničke učinkovitosti, prikazan je u Tablica 13.

Tablica 13: Pozitivnost testa Aptima HSV 1 & 2 prema kategoriji mjesta lezije i dobnoj skupini¹

Mjesto lezije Dobna skupina	% prevalencija (br. pozitivnih / br. testiranih)			
	Uzorak u VTM-u		Ispitak brisa Aptima Multitest	
	HSV-1 pozitivan	HSV-2 pozitivan	HSV-1 pozitivan	HSV-2 pozitivan
Sva mjesta lezija				
Sve dobne skupine	21,9 (170/778)	33,0 (257/778)	26,0 (203/782)	35,3 (276/782)
< 2 godine	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)
od 2 do 11 godina	30,8 (4/13)	0,0 (0/13)	50,0 (7/14)	0,0 (0/14)
od 12 do 21 godine	21,5 (23/107)	40,2 (43/107)	24,8 (27/109)	42,2 (46/109)
od 22 do 30 godina	18,9 (63/334)	36,8 (123/334)	21,4 (72/337)	39,5 (133/337)
od 31 do 40 godina	20,7 (30/145)	33,8 (49/145)	27,3 (39/143)	35,7 (51/143)
od 41 do 50 godina	22,7 (17/75)	26,7 (20/75)	25,7 (19/74)	28,4 (21/74)
od 51 do 60 godina	30,9 (21/68)	22,1 (15/68)	37,7 (26/69)	24,6 (17/69)
> 60 godina	32,3 (10/31)	22,6 (7/31)	35,5 (11/31)	25,8 (8/31)
Anogenitalne lezije				
Sve dobne skupine	13,4 (72/537)	47,5 (255/537)	13,5 (73/539)	50,8 (274/539)
< 2 godine	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
od 2 do 11 godina	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
od 12 do 21 godine	20,7 (17/82)	52,4 (43/82)	20,2 (17/84)	54,8 (46/84)
od 22 do 30 godina	14,2 (38/268)	45,5 (122/268)	14,4 (39/270)	48,9 (132/270)
od 31 do 40 godina	11,5 (12/104)	47,1 (49/104)	12,6 (13/103)	49,5 (51/103)
od 41 do 50 godina	9,1 (4/44)	45,5 (20/44)	4,8 (2/42)	50,0 (21/42)
od 51 do 60 godina	3,7 (1/27)	51,9 (14/27)	7,1 (2/28)	57,1 (16/28)
> 60 godina	0,0 (0/10)	70,0 (7/10)	0,0 (0/10)	80,0 (8/10)
Oralne lezije				
Sve dobne skupine	40,7 (98/241)	0,8 (2/241)	53,5 (130/243)	0,8 (2/243)
< 2 godine	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)
od 2 do 11 godina	33,3 (4/12)	0,0 (0/12)	53,8 (7/13)	0,0 (0/13)
od 12 do 21 godine	24,0 (6/25)	0,0 (0/25)	40,0 (10/25)	0,0 (0/25)
od 22 do 30 godina	37,9 (25/66)	1,5 (1/66)	49,3 (33/67)	1,5 (1/67)
od 31 do 40 godina	43,9 (18/41)	0,0 (0/41)	65,0 (26/40)	0,0 (0/40)
od 41 do 50 godina	41,9 (13/31)	0,0 (0/31)	53,1 (17/32)	0,0 (0/32)

Tablica 13: Pozitivnost testa Aptima HSV 1 & 2 prema kategoriji mjesta lezije i dobnoj skupini¹ (nastavak)

Mjesto lezije Dobna skupina	% prevalencija (br. pozitivnih / br. testiranih)			
	Uzorak u VTM-u		Ispitak brisa Aptima Multitest	
	HSV-1 pozitivan	HSV-2 pozitivan	HSV-1 pozitivan	HSV-2 pozitivan
od 51 do 60 godina	48,8 (20/41)	2,4 (1/41)	58,5 (24/41)	2,4 (1/41)
> 60 godina	47,6 (10/21)	0,0 (0/21)	52,4 (11/21)	0,0 (0/21)

¹ Nijedan ispitanik nije imao pozitivne rezultate testa Aptima HSV 1 & 2 i za HSV-1 i za HSV-2.

Pozitivne i negativne prediktivne vrijednosti za hipotetske stope prevalencije

Procijenjene pozitivne i negativne prediktivne vrijednosti (PPV i NPV) testa Aptima HSV 1 & 2 za otkrivanje HSV-1 i HSV-2 pri različitim hipotetskim stopama prevalencije prikazane su za svaku vrstu ispitka u Tablica 14. Ti se izračuni temelje na ukupnoj procijenjenoj osjetljivosti i specifičnosti za svaku vrstu ispitka kako je utvrđeno u studiji kliničke učinkovitosti.

Tablica 14: Hipotetski PPV i NPV za otkrivanje HSV-1 i HSV-2 prema vrsti ispitka i kategoriji mjesta lezije

Vrsta ispitka	Mjesto lezije	Prevalencija (%)	HSV-1		HSV-2	
			PPV (%)	NPV (%)	PPV (%)	NPV (%)
Uzorak u VTM-u	Anogenitalni	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
	Oralni	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

Tablica 14: Hipotetski PPV i NPV za otkrivanje HSV-1 i HSV-2 prema vrsti ispitka i kategoriji mjesta lezije

Vrsta ispitka	Mjesto lezije	Prevalencija (%)	HSV-1		HSV-2	
			PPV (%)	NPV (%)	PPV (%)	NPV (%)
STM brisa Aptima	Anogenitalni	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
	Oralni	1	8,0	100	100	99,7
		2	15,0	99,9	100	99,3
		5	31,2	99,9	100	98,3
		10	49,0	99,7	100	96,4
		20	68,3	99,3	100	92,3
		30	78,7	98,8	100	87,5
		40	85,2	98,1	100	81,8
		50	89,6	97,2	100	75,0

STM brisa Aptima = ispitak brisa Aptima Multitest, VTM = uzorak u VTM-u.

Distribucija vremena granične vrijednosti za pozitivne kontrole testa Aptima HSV 1 & 2

Raspodjela vrijednosti vremena granične vrijednosti za pozitivnu kontrolu testa Aptima HSV 1 & 2 iz svih valjanih obrada testa Aptima HSV 1 & 2 provedenih tijekom kliničke studije učinkovitosti prikazana je u Tablica 15.

Tablica 15: Raspodjela vremena granične vrijednosti za test Aptima HSV 1 & 2

Pozitivne kontrole

Statistika	Vrijeme granične vrijednosti	
	HSV-1	HSV-2
N	107	107
Srednja vrijednost	20,03	22,01
Medijan	19,8	21,7
SD	1,198	1,612
CV (%)	6,0	7,3
Minimalno	18,1	19,5
Maksimalno	22,9	26,2

CV = koeficijent varijacije, SD = standardna devijacija.

Bibliografija

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; aktualna verzija.
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.

Kontaktни podaci i povijest revizija



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



Adresa australskog naručitelja:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Za e-adresu i telefonski broj tehničke podrške i korisničke službe specifične za vašu zemlju posjetite www.hologic.com/support.

Ozbiljne štetne događaje do kojih je došlo u vezi s proizvodom u Europskoj uniji potrebno je prijaviti proizvođaču i nadležnom tijelu države-članice u kojoj se korisnik i/ili pacijent nalazi.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion i pridruženi logotipi zaštitni su znakovi ili registrirani zaštitni znakovi društva Hologic, Inc. i/ili njegovih podružnica u SAD-u i/ili drugim zemljama.

Svi drugi zaštitni znakovi koji se mogu pojaviti u ovoj uputi vlasništvo su svojih vlasnika.

Ovaj proizvod može biti obuhvaćen jednim ili više patenata u SAD-u koji su identificirani na www.hologic.com/patents.

©2016. – 2026. Hologic, Inc. Sva prava pridržana.

AW-23071-2501 Rev. 002

2026-03

Povijest revizija	Datum	Opis
AW-23071-2501 Rev. 001	Listopad 2022.	- Sastavljene Upute za uporabu za test APTIMA HSV 1 & 2 AW-23071 Rev. 001 zamijenit će AW-15346 Rev. 005. Radi usklađenosti s IVDR-om (izvan SAD-a i/ili u SAD-u) podaci su robusniji i izrađen je novi PI kako bi se ispunili zahtjevi IVDR-a. - Dodan sažetak o sigurnosti i učinkovitosti. - Ažuriran odjeljak Upozorenja i mjere opreza. - Ažurirani odjeljak Potrebni materijali koji su dostupni zasebno. - Ažuriran odjeljak o sustavu Panther u okviru postupka testiranja na sustavu Panther. - Uklonjene su prethodne tablice od 13 do 18 i tablice su prenumerirane u skladu s tim - Ažurirani kontaktни podaci, uključujući: predstavnika EZ-a, oznaku CE, informacije o australskom predstavniku i tehničku podršku. - Razna ažuriranja stila i formatiranja.

Povijest revizija	Datum	Opis
AW-23071-2501 Rev. 002	Ožujak 2026.	- Ažurirana tablica opasnosti EU-a s najnovijim oznakama opasnosti. - Dodane dvije izjave u odjeljak Upozorenja i mjere opreza. Jedna se odnosi na dobre prakse molekularnih laboratorija i praćenje stanja okoliša, a druga na odbacivanje epruveta za transport koje ne sadrže briseve. - Ažurirane upute za skladištenje ispitaka nakon testiranja kako bi se uključila mogućnost zatvaranja epruvete za transport ispitka čepom. Također je dodana napomena o uvjetima koji mogu utjecati na mogućnost pipetiranja više alikvota. - Ažurirana tablica Potrebni materijali koji su dostupni zasebno. - Ažurirane upute u odjeljku Rekonstitucija reagensa / priprema novog kompleta. - Ažurirane upute za rukovanje ispitkom kako bi se broj odvojenih alikvota iz epruvete s ispitkom povećao na 5 i kako bi se u nekim situacijama dopustilo miješanje u vorteks miješalici. - Ažurirane upute za pripremu sustava radi jasnoće. - U odjeljku Tumačenje rezultata dodano je da treba uzeti novi ispitak ako su rezultati testa uzorka drugi put nevaljani. - Radi jasnoće, naslov odjeljka „Umjetno dobiveni oralni HSV-2” ažuriran je u „Učinkovitost HSV-2 u umjetno dobivenoj oralnoj kliničkoj matrici”. - Razna ažuriranja stila, zaštitnih znakova i formatiranja.