

Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

Do diagnostyki *in vitro*.

Tylko na eksport poza USA.

Informacje ogólne	2
Przeznaczenie	2
Podsumowanie i objaśnienie testu.....	2
Zasady testu	3
Ostrzeżenia i środki ostrożności	3
Przechowywanie odczynników i wymagania dotyczące stosowania.....	5
Pobieranie i przechowywanie próbek	5
Panther System	8
Dostarczone odczynniki i materiały.....	8
Materiały wymagane, ale dostarczane osobno	9
Procedura testu w aparacie Panther System.....	10
Uwagi dotyczące procedury testowej.....	13
Kontrola jakości	14
Interpretacja testu	15
Ograniczenia.....	16
Charakterystyka testu analitycznego Panther System	17
Podłoże transportowe do przenoszenia wirusów (VTM).....	17
Czułość analityczna	17
Weryfikacja LoD.....	17
Zakażenia współistniejące	18
Reaktywność krzyżowa	18
Zakłócenia	19
Przygotowane próbki z jamy ustnej HSV-2.....	20
Kliniczna charakterystyka działania aparatu Panther System	21
Odtwarzalność.....	21
Charakterystyka kliniczna	22
Zakres referencyjny i wartości oczekiwane.....	31
Bibliografia	34

Informacje ogólne

Przeznaczenie

Test Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 assay (Aptima HSV 1 & 2 assay) (Test Aptima do oznaczania wirusa opryszczki pospolitej typu 1 i 2) jest testem amplifikacji kwasów nukleinowych (ang. nucleic acid amplification test, NAAT) przeprowadzanym w czasie rzeczywistym w warunkach *in vitro*, przeznaczonym do jakościowego wykrywania i różnicowania RNA informacyjnego (mRNA) pochodzącego z wirusa opryszczki pospolitej (ang. herpes simplex virus, HSV) typu 1 (HSV-1) i typu 2 (HSV-2) w aparacie Panther™ System.

Test można stosować do badania pobranych przez klinicystę wymazów ze zmian skórnych okolicy narządów płciowych i odbytu lub jamy ustnej, umieszczonych w podłożu transportowym do przenoszenia wirusów (ang. viral transport media, VTM) albo podłożu transportowym do przenoszenia próbek Aptima (ang. specimen transport medium, STM). Test będzie stosowany jako pomoc w diagnostyce zakażeń wirusem HSV-1 i/lub HSV-2 u pacjentów obu płci, u których występują objawy.

Test nie jest przeznaczony do stosowania z próbkami płynu mózgowo-rdzeniowego ani do prenatalnych badań przesiewowych.

Podsumowanie i objaśnienie testu

Wirusy opryszczki pospolitej typu 1 i 2 (HSV-1 i HSV-2) to wirusy zawierające dwuniciowe DNA, należące do podrodziny Alphaherpesvirinae. Chociaż HSV-1 i HSV-2 są blisko spokrewnione, są odmienne pod względem genetycznym i serologicznym (1). W Stanach Zjednoczonych w latach 2005–2010 seroprewalencja HSV-1 wynosiła 53,9% a seroprewalencja HSV-2 — 15,7% (2).

HSV-1 i HSV-2 powodują zwykle zakażenia uszkodzonej skóry albo błon śluzowych jamy ustnej lub narządów płciowych, co powoduje bolesne zmiany. Po początkowej fazie objawowej zakażenie przechodzi w postać utajoną, w czasie której wirusy są obecne w zwojach czuciowych nerwów, powodując tym samym zakażenie trwające całe życie człowieka, bez możliwości wyleczenia. Wiele zdarzeń, takich jak stres fizyczny lub emocjonalny, gorączka, promieniowanie ultrafioletowe i uszkodzenie tkanek, może powodować reaktywację wirusa, prowadząc do ponownego pojawienia się zmian lub bezobjawowego wydzielania wirusów (1, 3).

Chociaż zarówno HSV-1 jak i HSV-2 mogą powodować zakażenie błon śluzowych jamy ustnej i narządów płciowych, HSV-1 odpowiada za większość zakażeń poza okolicą narządów płciowymi. W Stanach Zjednoczonych zakażenie narządów płciowych przez HSV stanowi jedną z najczęściej występujących chorób przenoszonych drogą płciową. O ile HSV-2 nadal jest najczęstszą przyczyną opryszczki narządów płciowych, wyniki niedawnych badań sugerują wzrost częstości występowania opryszczki narządów płciowych wywołanej przez HSV-1 (4). Zakażenie narządów płciowych przez HSV może ułatwić zakażenie i przekazanie HIV (5). Dodatkowo, u kobiet ciężarnych z pierwotnym zakażeniem narządów płciowych przez HSV w dalszym trymestrze występuje 50% prawdopodobieństwo przekazania wirusa do płodu, ponadto są one narażone na wyższe ryzyko spontanicznego poronienia i przedwczesnego porodu (6).

Wysoki odsetek bezobjawowych zakażeń HSV pozostaje bez rozpoznania przez pacjenta lub lekarza (7). Dokładne rozpoznanie zakażeń HSV poprawia poradnictwo, prowadzi do skutecznego leczenia i ogranicza przenoszenie wirusa (4).

Dawniej zakażenia HSV rozpoznawano, prowadząc hodowlę w kierunku wirusów, a następnie typując HSV z zastosowaniem immunofluorescencji, przy czym te procedury są czasochłonne i pracochłonne. Wykazano, że testy amplifikacji kwasów nukleinowych (NAAT) są czulsze niż hodowla i czas do uzyskania wyniku jest znacznie krótszy (4).

Test Aptima HSV 1 & 2 assay jest testem NAAT opracowanym do zastosowania w automatycznym aparacie Panther System, który wykorzystuje wychwyty cząstek docelowych, amplifikację z mediacją transkrypcji (ang. transcription mediated amplification, TMA™), wykrywanie HSV-1, HSV-2 w czasie rzeczywistym oraz kontrolę wewnętrzną (ang. internal control, IC). Test Aptima HSV 1 & 2 assay polega na amplifikacji i detekcji mRNA dla wirusów HSV-1 i HSV-2 (8). To RNA z genomu wirusa ulega ekspresji w trakcie cyklu zakażenia i znajduje się wewnątrz cząstek wirusa HSV-1 i HSV-2 przed uwolnieniem wirusa z zakażonych komórek (9). Tym

samym test Aptima HSV 1 & 2 assay może wykrywać zakażone wirusem komórki oraz same cząstki dojrzałego wirusa.

Zasady testu

Test Aptima HSV 1 & 2 assay można podzielić na trzy podstawowe etapy, przy czym wszystkie odbywają się w pojedynczej próbówce w aparacie Panther System: wychwytywanie cząstek docelowych, amplifikacja cząstek docelowych metodą TMA oraz detekcja produktów amplifikacji (amplikonów) wyznakowanymi fluorescencyjnie sondami (typu torch). W każdym teście stosowana jest IC, aby monitorować wychwytywanie cząstek docelowych kwasów nukleinowych, amplifikację i detekcję.

Próbki są zbierane albo przenoszone do próbówki zawierającej podłoże STM, które powoduje lizę komórek, uwalnianie mRNA, a także chroni przed rozkładem w czasie przechowywania. Po wykonaniu testu Aptima HSV 1 & 2 assay docelowe mRNA jest izolowane z próbki dzięki zastosowaniu odpowiedzialnych za wychwytywanie oligomerów połączonych z mikrocząsteczkami magnetycznymi. Oligomery odpowiedzialne za wychwytywanie zawierają sekwencje komplementarne do swoistych obszarów docelowych cząsteczek mRNA HSV, a także szereg reszt deoksyadenozyny. Na etapie hybrydyzacji obszary swoiste dla sekwencji oligomerów odpowiedzialnych za wychwytywanie wiążą się ze swoistymi obszarami cząsteczki docelowej mRNA HSV. Następnie kompleks oligomer odpowiedzialny za wychwytywanie:cząstka docelowa jest wychwytywany z roztworu dzięki obniżeniu temperatury reakcji do temperatury pokojowej. Ten spadek temperatury umożliwia hybrydyzację między obszarem deoksyadenozyny oligomeru odpowiedzialnego za wychwytywanie i cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząsteczkami magnetycznymi. Mikrocząstki zawierające związane z nimi cząsteczki docelowego mRNA HSV, są przeciągane na bok próbówki reakcyjnej magnesami, a supernatant podlega aspiracji. Cząsteczki są płukane, aby usunąć pozostałości matrycy próbki, która może zawierać inhibitory amplifikacji.

Po zakończeniu wychwytywania cząstek docelowych mRNA HSV ulega amplifikacji metodą TMA, polegającej na amplifikacji kwasów nukleinowych opartej na transkrypcji, z wykorzystaniem dwóch enzymów: odwrotnej transkryptazy mysiego wirusa białaczki Moloneya (MMLV) oraz polimerazy T7 RNA. Odwrotna transkryptaza jest stosowana do utworzenia kopii DNA docelowej sekwencji mRNA zawierającej sekwencję promotorową dla polimerazy T7 RNA. Polimeraza T7 RNA wytwarza liczne kopie amplikonu RNA na podstawie szablonu kopii DNA.

Detekcja następuje dzięki zastosowaniu sond jednoniciowego kwasu nukleinowego, które są obecne w czasie amplifikacji cząstki docelowej i ulegają swoistej hybrydyzacji z amplikonem w czasie rzeczywistym. Każda sonda typu torch składa się z fluoroforu i wygaszacza. Wygaszcz tłumi fluorescencję fluoroforu, ponieważ został zaprojektowany tak, aby jeśli nie ulega hybrydyzacji do amplikonu, znajdował się w bezpośredniej bliskości. Gdy sonda wiąże się z amplikonem, wygaszcz jest odsuwany dalej od fluoroforu i po wzbudzeniu przez źródło światła emituje sygnał o swoistej długości fali. Więcej sondy ulega hybrydyzacji przy większej ilości amplikonu. Wzrost sygnału fluorescencji w czasie progresywnej amplifikacji wykrywają fluorometry w aparacie Panther System. W aparacie Panther System można wykryć i odróżnić trzy fluorescencyjne sygnały odpowiadające produktom amplifikacji HSV-1, HSV-2 i IC. Fluorescencja (mierzona we względnych jednostkach fluorescencji [ang. relative fluorescence units, RFU]) jest monitorowana w czasie w celu utworzenia krzywej pojawienia się fluorescencji w czasie rzeczywistym dla każdego barwnika reportera. Oprogramowanie aparatu Panther System porównuje krzywe pojawienia się fluorescencji z określonymi czasami granicznymi w celu podania wyników (TTime) dla HSV-1, HSV-2 i IC.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Aby zmniejszyć ryzyko uzyskania nieprawidłowych wyników, przed wykonaniem tego testu należy uważnie przeczytać całą ulotkę załączoną do opakowania oraz *Podręcznik operatora aparatu Panther System*.

Kwestie związane z laboratorium

- B. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- C. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie pipetować ustami. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami

zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpydrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.

- D. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M).
- E. Usunąć wszystkie materiały, które miały kontakt z próbkami i odczynnikami zgodnie z lokalnymi, stanowymi i federalnymi przepisami (10, 11, 12, 13). Dokładnie oczyścić i zdezynfekować wszystkie powierzchnie robocze.

Kwestie dotyczące próbek

- F. Daty ważności zestawów do przenoszenia próbek dotyczą czasu pobrania/przeniesienia próbek a nie czasu badania. Próbki zebrane/przeniesione w dowolnym czasie przed upływem daty ważności mogą być badane, o ile były transportowane i przechowywane zgodnie z ulotką załączoną do opakowania, nawet jeżeli minęła data ważności próbki do przenoszenia.
- G. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać ogólnych środków ostrożności (10, 11, 12). Właściwą pracę oraz metody usuwania należy określić na podstawie lokalnych przepisów (13). Test ten powinien wykonywać jedynie personel odpowiednio przeszkolony z zakresu testu Aptima HSV 1 & 2 assay oraz z zakresu pracy z materiałem zakaźnym.
- H. W trakcie transportu próbek zapewnić prawidłowe warunki przechowywania, pozwoli to zachować ich prawidłowy stan. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- I. W czasie etapów pracy z próbkami unikać skażenia krzyżowego. Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć kontaminacji poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu w czasie luzowania lub zdejmowania pokrywek z próbek. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie organizmów. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie kontaktowały się wzajemnie ze sobą i wyrzucać zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmieniać rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.
- J. W pewnych warunkach po przekłuciu spod pokrywek próbek transportowych Aptima może uwolnić się płyn. Więcej informacji można znaleźć w odpowiedniej *Procedurze testu*.
- K. Jeżeli w próbce transportowej Aptima z wymazem nie będzie wymazu, będą dwa albo wymazówka nie została dostarczona przez firmę Hologic, próbkę należy odrzucić.

Kwestie dotyczące testu

- L. Nie wymieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych pochodzących z zestawów o różnych numerach serii głównej. Można wymieniać kontrole i płyny stosowane w czasie testu.
- M. Unikać skażenia odczynników przez drobnoustroje i nukleazy.
- N. Wszystkie odczynniki analityczne należy przechowywać zamknięte i w określonych temperaturach. W przypadku zastosowania odczynników analitycznych przechowywanych w niewłaściwych warunkach charakterystyka testu może być zmieniona. Więcej informacji przedstawiono w rozdziale „Przechowywanie odczynników i wymagania dotyczące stosowania” i „Procedura testu w aparacie Panther System”.
- O. Nie łączyć odczynników ani płynów analitycznych bez konkretnej instrukcji. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami. Aparat Panther System weryfikuje poziom odczynników.


Przechowywanie odczynników i wymagania dotyczące stosowania

A. W tabeli poniżej przedstawiono warunki przechowywania i stabilność odczynników i kontroli.

Odczynnik	Przechowywanie nieotwartych odczynników	Zestaw po otwarciu (po przygotowaniu odczynników)	
		Przechowywanie	Stabilność
Odczynnik do amplifikacji	2°C do 8°C		
Roztwór do amplifikacji po przygotowaniu	15°C do 30°C	2°C do 8°C	30 dni ¹
Odczynnik enzymatyczny	2°C do 8°C		
Roztwór enzymatyczny po przygotowaniu	15°C do 30°C	2°C do 8°C	30 dni ¹
Odczynnik promotora	2°C do 8°C		
Roztwór promotora po przygotowaniu	15°C do 30°C	2°C do 8°C	30 dni ¹
Odczynnik do wychwytywania cząstek docelowych	15°C do 30°C	15°C do 30°C ²	30 dni ¹
Kontrola ujemna	2°C do 8°C		Fiolka jednorazowego użytku
Kontrola dodatnia	2°C do 8°C		Fiolka jednorazowego użytku
Kontrola wewnętrzna	2°C do 8°C		Fiolka jednorazowego użytku

¹ Po wyjęciu odczynników z aparatu Panther System należy je niezwłocznie przenieść do miejsca o odpowiedniej temperaturze przechowywania.

² Warunki przechowywania dla roboczego odczynnika do wychwytywania cząstek docelowych (odczynnik do wychwytywania cząstek docelowych z dodaną kontrolą wewnętrzną).

- B. Wyrzucić pozostałości odczynników po przygotowaniu, których nie wykorzystano, oraz roboczy odczynnik do wychwytywania cząstek docelowych (wTCR) po 30 dniach lub po upływie daty ważności serii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- C. Odczynniki przechowywane w aparacie Panther System charakteryzują się stabilnością wewnętrzną wynoszącą 120 godzin.
- D.  Odczynnik promotora i rozcieńczony odczynnik promotora po przygotowaniu są wrażliwe na światło. Te odczynniki należy chronić przed światłem w trakcie przechowywania i przygotowania do stosowania.
- E. W trakcie obchodzenia się z odczynnikami i ich przechowywania unikać skażenia krzyżowego. Przed przechowywaniem za każdym razem nałożyć nowe pokrywki na wszystkie odczynniki po przygotowaniu.
- F. **Odczynników nie zamrażać.**

Pobieranie i przechowywanie próbek

Uwaga. Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.

Uwaga. Starać się unikać kontaminacji krzyżowej w czasie etapów pracy z próbkami. Przykładowo, wyrzucać zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami.

Można stosować zebrane przez klinicystę wymazy pochodzące ze zmian znajdujących się w okolicy narządów płciowych lub odbytu albo w jamie ustnej, pobrane na podłoże STM lub VTM.

Próbki ze zmian można zbierać, stosując:

- Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest (na podłoże STM)
- Dostępny na rynku zestaw do pobierania VTM

A. Instrukcja pobierania

Szczegółowe instrukcje pobierania przedstawiono w odpowiedniej ulotce załączonej do opakowania zestawu do pobierania próbek.

B. Transport i przechowywanie próbek przed testem

1. Wymazy pobrane za pomocą zestawu do pobierania wymazów Aptima Multitest

- a. Próbkę znajdującą się w probówce transportowej na wymaz Aptima transportować i przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez maksymalnie 60 dni od pobrania.
- b. W przypadku konieczności dłuższego przechowywania próbki należy przechowywać w temperaturze $\leq -20^{\circ}\text{C}$ przez maksymalnie 90 dni od pobrania.

2. Wymazy zebrane za pomocą zestawu do pobierania VTM

- a. Próbkę znajdującą się w probówce VTM transportować i przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C przez maksymalnie 3 dni od pobrania.
- b. Przed wykonaniem testu Aptima HSV 1 & 2 assay próbki pobrane na podłoże VTM należy przenieść do probówki do przenoszenia z zestawu do transportu próbek Aptima, zawierającej 2,9 ml STM, zgodnie z poniższą instrukcją.
- c. Przygotowanie obszaru do przenoszenia próbek
 - i. Nałożyć czyste rękawiczki bezpudrowe.
 - ii. Przetrzeć powierzchnie robocze i pipetory roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M).
 - iii. Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami roboczymi i pipetorami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy spłukać wodą dejonizowaną. Osuszyć powierzchnie czystymi ręcznikami papierowymi.
 - iv. Zakryć stół czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
 - v. W obszarze do przenoszenia próbek umieścić statyw na probówki zawierający wystarczającą liczbę probówek do przenoszenia próbek Aptima, która odpowiada liczbie badanych próbek VTM.
 - vi. Oznakować każdą probówkę do przenoszenia próbek Aptima numerem zgłoszenia lub ID próbki.
- d. Procedura przenoszenia próbek
 - i. Aby zmniejszyć ryzyko skażenia innych próbek, pracować jednocześnie z jedną próbką VTM.
 - ii. Nałożyć czyste rękawiczki bezpudrowe i umieścić próbki przeznaczone do badania w obszarze do przenoszenia próbek.
 - iii. Wziąć jedną próbkę VTM. Zdjąć pokrywkę odpowiedniej probówki do przenoszenia próbek Aptima, umieszczając pokrywkę z gwintem skierowanym do góry na stole.
 - iv. Wytrząsać próbkę VTM przez 3 do 10 sekund. Zdjąć pokrywkę probówki, umieszczając ją z gwintem skierowanym do góry na stole.

- v. W ciągu 1 minuty od wytrząsania pobrać pipetą 0,5 ml próbki VTM do probówki do przenoszenia próbek Aptima z zestawu do przenoszenia próbek Aptima, zawierającej 2,9 ml STM.
 - vi. Wyrzucić końcówkę do pojemnika zawierającego 0,5% roztwór podchlorynu sodu.
 - vii. Mocno docisnąć pokrywkę probówki do przenoszenia próbek Aptima. Delikatnie odwrócić probówkę od 2 do 3 razy, aby zagwarantować dokładne wymieszanie się próbki.
 - viii. Nałożyć pokrywkę na probówkę, a resztę próbki VTM przechowywać w temperaturze $\leq -70^{\circ}\text{C}$, jeżeli będzie jeszcze potrzebna.
 - ix. Powtórzyć etapy od iii do viii w celu przeniesienia kolejnych próbek. Rękawiczki bezpudrowe należy zmieniać często, zwłaszcza po kontakcie z próbką.
- e. Po przeniesieniu próbki do probówki do przenoszenia próbek Aptima próbki można transportować i przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez maksymalnie 30 dni.
 - f. W przypadku konieczności dłuższego przechowywania próbkę VTM należy zamrozić w probówce do przenoszenia próbek Aptima w temperaturze $\leq -20^{\circ}\text{C}$ i przechowywać przez maksymalnie 90 dni.
- C. Przechowywanie próbek po teście:
1. Próbki, które były już badane, należy przechowywać pionowo w statywie.
 2. Probówki na próbki należy przykryć nowym, czystym parafilmem albo folią ochronną.
 3. Jeżeli badane próbki należy zamrozić albo wysłać, zdjąć przepuszczalną pokrywkę i nałożyć nową nieprzepuszczalną pokrywkę na wszystkie probówki transportowe na próbki. Jeżeli próbki należy wysłać do badania do innej placówki, należy zawsze pamiętać o przechowywaniu ich w zalecanej temperaturze.
 4. Przed zdjęciem pokrywek z wcześniej badanych próbek, na które nałożono nowe pokrywki, probówki transportowe na próbki należy wirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa), aby całość płynu znalazła się na dnie probówki. **Unikać rozpryskiwania i skażenia krzyżowego.**

Uwaga. *Próbki należy przysyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami transportowymi.*

Panther System

Odczynniki przeznaczone do testu Aptima HSV 1 & 2 assay wymieniono poniżej dla aparatu Panther System. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Dostarczone odczynniki i materiały

Uwaga: Informacje dotyczące zwrotów wskazujących zagrożenia i środki ostrożności, które mogą się wiązać z odczynnikiem, przedstawiono w bibliotece kart charakterystyki produktów na stronie www.hologic.com/sds.

Zestaw testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

100 testów (2 pudełka do testów i 1 zestaw kontroli), nr kat. PRD-03568

Kontrole są dostarczane oddzielnie. Poniżej przedstawiono poszczególne numery katalogowe.

Pudełko do mrożenia testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	Odczynnik do amplifikacji <i>Liofilizowane, niezakaźne kwasy nukleinowe w buforze.</i>	1 fiolka
E	Odczynnik enzymatyczny <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w buforze HEPES.</i>	1 fiolka
PRO	Odczynnik promotora <i>Liofilizowane, niezakaźne kwasy nukleinowe w buforze.</i>	1 fiolka
IC	Kontrola wewnętrzna <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w buforze.</i>	1 x 0,3 ml

Pudełko do przechowywania w temperaturze pokojowej testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
AR	Roztwór do amplifikacji po przygotowaniu <i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Roztwór enzymatyczny po przygotowaniu <i>Roztwór buforu HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Roztwór promotora po przygotowaniu <i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząstek docelowych <i>Kwasy nukleinowe w buforze, z fazą stałą oraz niezakaźne kwasy nukleinowe.</i>	1 x 26,0 ml
	Kołnierze do przygotowania odczynników	3
	Karta z kodami kreskowymi serii głównych	1 karta

Zestaw kontroli testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 assay (nr kat. PRD-03569)

(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
KONTROLA –	Kontrola ujemna <i>Roztwór buforu.</i>	5 x 2,7 ml
KONTROLA +	Kontrola dodatnia <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w buforze.</i>	5 x 1,7 ml
	Karta z kodami kreskowymi kontroli	1 karta

Materiały wymagane, ale dostarczane osobno

Uwaga. Materiały o podanych numerach katalogowych są dostępne w firmie Hologic, o ile nie określono inaczej.

Materiał	Nr kat.
Panther System	—
Zestaw wstępny Panther do testów w czasie rzeczywistym (tylko do testów w czasie rzeczywistym)	PRD-03455 (5000 testów)
<i>Zestaw płynów do testu Aptima (znany także jako uniwersalny zestaw płynów) zawiera roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu do dezaktywacji Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima</i>	303014 (1000 testów)
<i>Zestawy wieloprobówkowe (MTU)</i>	104772-02
<i>Zestaw worka na odpady Panther</i>	902731
<i>Oslona worka na odpady Panther</i>	504405
Albo zestaw wstępny do aparatu Panther System	303096 (5000 testów)
<i>(w przypadku wykonywania testów TMA nie w czasie rzeczywistym równoległe z testami TMA w czasie rzeczywistym) Zawiera MTU, worki na odpady, osłonę worka na odpady, płyny do autodetekcji i testu</i>	
Zestaw płynów do testu Aptima	303014 (1000 testów)
<i>(zawiera roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu do dezaktywacji Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima)</i>	
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Końcówki, 1000 µl, przewodzące, z detekcją cieczy	10612513 (Tecan)
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima	301154C
<i>do stosowania z próbkami pobranymi na podłoże VTM</i>	
Końcówki P1000	—
Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest	PRD-03546

Material	Nr kat.
Wybielacz (roztwór co najmniej 5,0% lub 0,7 M podchlorynu sodu)	—
<i>Uwaga: Wymieszać jedną część wybielacza z jedną częścią wody dejonizowanej, aby uzyskać rozcieńczony roztwór wybielacza [roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (0,35 M do 0,5 M)].</i>	
Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe	—
Pokrywki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne pokrywki nieprzepuszczalne	103036A
Pokrywki zamienne na odczynniki	
<i>Roztwory do przygotowania odczynników do amplifikacji, enzymatycznego i promotora</i>	
TCR	CL0041 (100 pokrywek) 501604 (100 pokrywek)
Wzmocnione plastikiem osłony stołu laboratoryjnego	—
Ściereczki bezpyłowe	—
Pipetor	—
Końcówki	—
Worteks	—

Procedura testu w aparacie Panther System

Uwaga. Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w podręczniku użytkownika aparatu Panther System.

A. Przygotowanie obszaru roboczego

- Oczyścić powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy je spłukać wodą dejonizowaną. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu.
- Oczyścić odrębną powierzchnię roboczą jako miejsce do przygotowania próbek. Postępować zgodnie z procedurą opisaną powyżej (etap A.1).
- Zakryć powierzchnię stołu, na której będą przygotowywane odczynniki i próbki, czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
- Przetrzeć pipetory roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy je spłukać wodą dejonizowaną. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu.

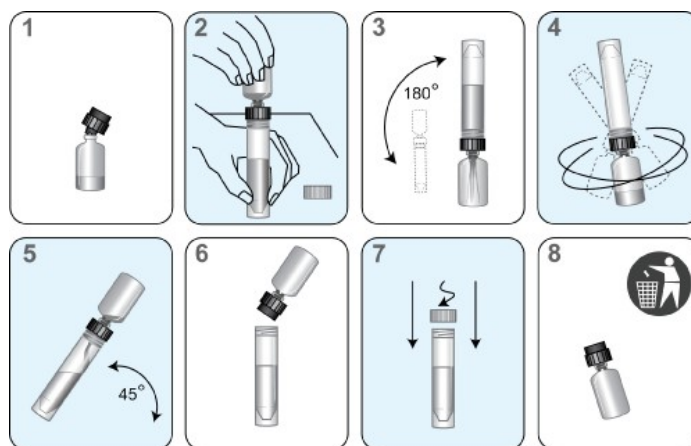
B. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

Uwaga. Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem pracy w aparacie Panther System.

- Przed testem odczynniki do amplifikacji, enzymatyczny i promotora należy przygotować, czyli zawartość buteleczek zawierających liofilizowany odczynnik połączyć z odpowiednim roztworem.

- a. Przed zastosowaniem odczekać, aż liofilizowane odczynniki osiągną temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C).
- b. Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika. Przed nałożeniem kołnierza do przygotowania sprawdzić, czy roztwór do przygotowania i odczynnik mają dopasowane symbole na etykiecie.
- c. Sprawdzić numery serii na karcie z kodami kreskowymi serii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
- d. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza w otwór fiolki (Rysunek 1, etap 1).
- e. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć pokrywkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
- f. Trzymając buteleczkę z roztworem na stole, mocno wcisnąć drugi koniec kołnierza w otwór buteleczki (Rysunek 1, etap 2).
- g. Powoli odwrócić połączone buteleczki. Poczekać, aż roztwór spłynie z buteleczki do szklanej fiolki (Rysunek 1, etap 3).
- h. Delikatnie obrócić buteleczkę z roztworem, aby wymieszać. Unikać tworzenia piany w czasie obracania buteleczki (Rysunek 1, etap 4).
- i. Odczekać co najmniej 15 minut, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, następnie ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować tworzenie piany (Rysunek 1, etap 5). Odczekać, aż całość płynu z powrotem przesączy się do plastikowej buteleczki.
- j. Zdjąć kołnierz i szklaną fiolkę (Rysunek 1, etap 6).
- k. Nałożyć pokrywkę na plastikową buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę rekonstytucji (Rysunek 1, etap 7).
- l. Wyrzucić kołnierz i szklaną fiolkę (Rysunek 1, etap 8).

Ostrzeżenie. Unikać tworzenia piany podczas przygotowywania odczynników. Piana ma niekorzystny wpływ na detekcję poziomu płynu w aparacie Panther System.



Rysunek 1. Proces przygotowania odczynników

2. Przygotować roboczy odczynnik do wychwytywania cząstek docelowych (wTCR).
 - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR i IC.
 - b. Sprawdzić numery serii odczynników na karcie z kodami kreskowymi serii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki z zestawu.

- c. Otworzyć buteleczkę TCR i odłożyć pokrywkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - d. Otworzyć buteleczkę IC i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR. Przewiduje się, że w buteleczce IC pozostanie niewielka ilość płynu.
 - e. Nałożyć pokrywkę na buteleczkę i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. Na tym etapie unikać tworzenia piany.
 - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
 - g. Wyrzucić buteleczkę IC i pokrywkę.
- C. Przygotowanie odczynników dla odczynników przygotowanych wcześniej
1. Przed rozpoczęciem testu uprzednio przygotowane odczynniki do amplifikacji, enzymatyczny i promotora muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C).
 2. Jeżeli w wTCR znajduje się osad, podgrzać wTCR do temperatury od 42°C do 60°C przez maksymalnie 90 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura wTCR powróci do pokojowej. Nie stosować, jeżeli osad jest nadal obecny.
 3. Sprawdzić, czy odczynniki nie przekroczyły czasu stabilności w trakcie przechowywania, dotyczy to także stabilności wewnętrznej.
 4. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając przed włożeniem do aparatu. Unikać tworzenia piany podczas mieszania odczynników.
 5. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Aparat Panther System nie rozpozna butelek po dopełnieniu i odrzuci je.
- D. Obchodzenie się z próbkami
1. Przed obróbką odczekać, aż kontrole i próbki osiągną temperaturę pokojową.
 2. **Nie wytrząsać próbek.**
 3. Wizualnie sprawdzić, czy każda próbówka z próbką spełnia następujące kryteria:
 - a. Obecność pojedynczej różowej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki.
 - b. Brak wymazu w probówce do przenoszenia próbek Aptima w przypadku próbek VTM.
 4. Przed włożeniem do statywu sprawdzić próbówki z próbkami:
 - a. Jeżeli próbówka z próbką zawiera pęcherzyki między płynem a pokrywką, wirować próbówkę przez 5 minut w 420 RCF w celu eliminacji pęcherzyków.
 - b. Jeżeli objętość materiału w probówce z próbką jest mniejsza niż zwykle obserwowana w sytuacji, gdy przestrzegano instrukcji pobierania, wirować próbówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że pod pokrywką nie będzie płynu.
- Uwaga:** Jeżeli etapy 4a–4b nie zostaną przeprowadzone, może nastąpić wyciek płynu spod pokrywki próbówki z próbką.
- Uwaga:** Z każdej próbówki z próbką można poddać badaniu maksymalnie 3 odrębne porcje. Próby pobrania pipetą więcej niż 3 porcji z próbówki z próbką mogą doprowadzić do błędów w czasie pracy.
- E. Przygotowanie systemu
1. Skonfigurować system zgodnie z instrukcją w *Podręczniku operatora aparatu Panther System* i „*Uwagi dotyczące procedury testowej*”. Sprawdzić, czy stosowane są statywy na odczynniki o odpowiedniej wielkości oraz adaptery TCR.

Uwagi dotyczące procedury testowej

A. Kontrole

1. Probówki z kontrolą dodatnią i ujemną można załadować do dowolnego stanowiska w statywie albo do dowolnej wnęki na próbki w aparacie Panther System. Pobrane próbki będą pipetowane po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
 - a. System jest w trakcie przetwarzania kontroli.
 - b. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kontroli.
2. Po odpipetowaniu probówek z kontrolami i obróbce pod kątem swoistego zestawu odczynników próbki pacjenta można badać powiązaniem zestawem w okresie do 24 godzin, **o ile nie wystąpiły następujące sytuacje:**
 - a. Wyniki kontroli są nieprawidłowe.
 - b. Usunięto z systemu powiązany zestaw odczynników analitycznych.
 - c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
3. Każdą probówkę kontroli można przetestować tylko raz. Próby pipetowania więcej niż jeden raz z probówki mogą doprowadzić do błędów w czasie pracy.

B. Temperatura

Temperatura pokojowa jest zdefiniowana jako zakres od 15°C do 30°C.

C. Puder z rękawiczek

Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować zanieczyszczenie otwartych probówek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

Kontrola jakości

A. Kryteria prawidłowości próby:

Program automatycznie określi prawidłowość próby. Program unieważni próbę, jeżeli wyniki dla co najmniej jednej kontroli (ujemnej i dodatniej) są nieprawidłowe.

Próba może zostać uznana przez operatora za nieprawidłową w przypadku zaobserwowania i udokumentowania problemów technicznych, związanych z operatorem lub urządzeniem w trakcie testu.

Próbę nieprawidłową należy powtórzyć.

B. Prawidłowość kontroli:

W Tabeli 1 zdefiniowano kryteria prawidłowości TTime dla kontroli ujemnej i dodatniej.

Tabela 1. Kryteria prawidłowości TTime

	IC TTime	HSV-1 TTime	HSV-2 TTime
Kontrola ujemna	$\geq 7,0$ i $\leq 40,0$	-	-
Kontrola dodatnia	$\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 35,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 35,0$

Uwaga: *Próbki do zewnętrznej kontroli jakości (niedostarczone) należy badać zgodnie z lokalnymi, regionalnymi i/lub federalnymi przepisami albo wymaganiami akredytacji oraz zgodnie z każdą standardową procedurą kontroli jakości obowiązującą w danym laboratorium.*

Uwaga: *Aby uzyskać wsparcie dotyczące kontroli poza zakresem, należy skontaktować się ze wsparciem technicznym firmy Hologic.*

Uwaga: *Jeżeli nie można obliczyć wartości TTime, pojawi się kreska (-).*

Interpretacja testu

Wyniki testu są automatycznie określone przez oprogramowanie analityczne. Wyniki detekcji HSV-1 i HSV-2 są przedstawiane odrębnie. W Tabeli 2 przedstawiono możliwe wyniki zgłaszane w przypadku prawidłowej próby oraz interpretacje wyników. Próbkę z nieprawidłowymi wynikami testu należy ocenić ponownie. Należy przedstawić pierwszy prawidłowy wynik testu.

Tabela 2. Interpretacja wyników

Wynik HSV-1	Wynik HSV-2	Interpretacja
HSV1 neg	HSV2 neg	Wynik ujemny: Nie wykryto mRNA HSV-1 ani mRNA HSV-2
HSV1 neg	HSV2 POS	HSV-2 dodatni: Wykryto mRNA HSV-2
HSV1 POS	HSV2 neg	HSV-1 dodatni: Wykryto mRNA HSV-1
HSV1 POS	HSV2 POS	HSV-1 i HSV-2 dodatni: Wykryto mRNA HSV-1 i mRNA HSV-2
Invalid (nieprawidłowe)	Invalid (nieprawidłowe)	Nieprawidłowe: Wystąpił błąd w czasie tworzenia wyniku. Trzeba ponownie przetestować próbki.

W Tabeli 3 przedstawiono kryteria TTime do określania wyniku dla konkretnej próbki. Test może być także nieprawidłowy, jeżeli inne parametry znajdują się poza oczekiwanym zakresem.

Tabela 3. Kryteria TTime

	IC TTime	HSV-1 TTime	HSV-2 TTime
Ujemny	$\geq 7,0$ i $\leq 45,0$	-	-
HSV1 dodatni	- albo $\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$	-
HSV2 ujemny			
HSV1 ujemny	- albo $\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	-	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$
HSV2 dodatni			
HSV1 dodatni	- albo $\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$
HSV2 dodatni			
Invalid (nieprawidłowe)	-	-	-

Uwaga: Jeżeli nie można obliczyć wartości TTime, pojawi się kreska (-).

Ograniczenia

- A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie instrukcji przedstawionych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- B. Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i obróbki.
- C. Test nie jest przeznaczony do stosowania z próbkami płynu mózgowo-rdzeniowego ani do prenatalnych badań przesiewowych.

Charakterystyka testu analitycznego Panther System

Podłoże transportowe do przenoszenia wirusów (VTM)

Charakterystykę działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay oceniono, stosując powszechnie stosowane typy VTM (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 i Remel M5). Do każdego podłoża dodano osobno cząstki wirusa HSV-1 szczepu MacIntyre albo HSV-2 szczepu MS w stężeniu ~3X przekraczającym granicę wykrywalności (ang. Limit of Detection, LoD). Każdy panel przeniesiono następnie zgodnie z instrukcją w ulotce załączonej do opakowania dla STM. Aby ocenić potencjalny wpływ zakłócający różnych typów VTM, panele HSV-ujemne (bez dodanego wirusa) także rozcieńczono w podłożu STM i badano w 40 powtórzeniach na panel. Wszystkie panele ujemne były w 100% prawidłowe i ujemne, a wszystkie panele, do których dodano HSV-1 lub HSV-2, były w 100% dodatnie w kierunku badanego typu HSV.

Czułość analityczna

Czułość analityczną/LoD testu Aptima HSV 1 & 2 assay określono, badając serię paneli obejmujących próbki z HSV-1 lub HSV-2 znajdujące się w grupie pobranych ujemnych próbek klinicznych z STM i VTM rozcieńczonych w matrycach zawierających STM. W odniesieniu do HSV-1 badano szczepy wirusowe MacIntyre i HF. W odniesieniu do HSV-2 badano szczepy MS i G. Zbadano z zastosowaniem 3 serii odczynników co najmniej 60 powtórzeń dla każdego stężenia, dla każdej próbki panelu, dla każdej matrycy i szczepu wirusa.

Przeprowadzono analizę regresji probit w celu uzyskania przewidywanej 95% granicy wykrywalności dla każdego szczepu HSV w każdej matrycy i dla każdej serii. Stwierdzono, że granicą LoD jest stężenie, przy którym uzyskuje się $\geq 95\%$ wyników dodatnich dla badanych powtórzeń na podstawie najwyższego obliczenia dla trzech serii odczynników.

Tabela 4. LoD dla HSV 1 & 2 w VTM i STM

Typ/Szczep HSV	Typ próbki	LoD TCID50/ml (95% przedział ufności)
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)

Weryfikacja LoD

LoD zweryfikowano, stosując dwa kliniczne izolaty HSV-1 i dwa kliniczne izolaty HSV-2, które wyizolowano z HSV-dodatnich próbek klinicznych, a następnie przeprowadzono hodowlę i obliczenie na miejscu. Każdy izolat badano testem Aptima HSV 1 & 2 assay z zastosowaniem 60 powtórzeń przy 1X LoD, 3X LoD i 10X LoD. Test przeprowadzono dla matrycy STM i VTM dla wszystkich czterech izolatów klinicznych oraz z zastosowaniem 3 serii odczynników. Wszystkie powtórzenia dla wszystkich izolatów klinicznych przy wszystkich trzech badanych stężeniach badano testem Aptima HSV 1 & 2 assay i wykazano, że tym testem można dokładnie wykryć szeroki zakres obu izolatów HSV-1 i HSV-2 przy określonej LoD.

Zakażenia współistniejące

Przygotowano panele zawierające cząstki wirusa HSV-1 przy 3X LoD oraz HSV-2 przy 1000X LoD, a także HSV-2 przy 3X LoD i HSV-1 przy 1000X LoD. Przygotowano dodatkowe panele zawierające HSV-2 przy 100X stężeniu HSV-1 przy 3X LoD. We wszystkich przypadkach stwierdzono 100% detekcję dla HSV-1 i HSV-2.

Reaktywność krzyżowa

W celu oceny czułości analitycznej i swoistości testu Aptima HSV 1 & 2 assay w obecności innych drobnoustrojów, które mogą być obecne w próbkach klinicznych, przygotowano panele innych drobnoustrojów w podłożu STM w badanym stężeniu 1×10^5 jednostek/ml dla wirusów i 1×10^6 jednostek/ml w przypadku pozostałych drobnoustrojów. Drobnoustroje badano przy braku HSV albo w obecności HSV-1 lub HSV-2 przy 3X LoD. Stwierdzono, że czterdzieści siedem z 48 badanych drobnoustrojów nie miało wpływu na charakterystykę działania testu przy stężeniu 1×10^6 jednostek/ml; a *Streptococcus pneumoniae* nie powodował zakłóceń przy stężeniu 1×10^5 jednostek/ml (Tabela 5).

Tabela 5. Swoistość analityczna

Drobnoustrój	Stężenie
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Actinomyces israelii</i>	1×10^6 kopii RNA/ml ²
<i>Adenovirus typ 1</i>	1×10^5 TCID50/ml ³
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1×10^6 j.t.k./ml ¹
<i>Atopobium vaginae</i>	1×10^6 kopii RNA/ml ²
<i>Bacteroides fragilis</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Wirus BK</i>	1×10^5 kopii DNA/ml ³
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Candida glabrata</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Clostridium difficile</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Clostridium perfringens</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Enterococcus faecium</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Wirus Epsteina-Barr</i>	1×10^5 kopii DNA/ml ³
<i>Escherichia coli</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1×10^6 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Wirus zapalenia wątroby typu B</i>	1×10^5 j.m./ml ^{4,3}

Tabela 5. Swoistość analityczna

Drobnoustrój	Stężenie
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Mycoplasma hominis</i>	1 x 10 ⁶ kopii RNA/ml ²
<i>Mycoplasma orale</i>	1 x 10 ⁶ kopii RNA/ml ²
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
Parvovirus B19	1 x 10 ⁵ TCID50/ml ³
<i>Prevotella bivia</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Streptococcus mitis</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100 000 j.t.k./ml ^{1,2}
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁶ j.t.k./ml ^{1,2}
Wirus ospy wietrznej-półpaśca	1 x 10 ⁵ kopii DNA/ml ³
Wirus gorączki Zachodniego Nilu	1 x 10 ⁵ TCID50/ml ³

¹j.t.k. = jednostki tworzące kolonie, ²Uzyskano wewnątrznie w firmie Hologic, Inc., ³Uzyskano od firmy ZeptoMetrix Corporation (Buffalo NY), ⁴j.m. = jednostki międzynarodowe

Zakłócenia

Potencjalne substancje zakłócające wymienione w Tabeli 6 badano testem Aptima HSV 1 & 2 assay w początkowych stężeniach wynoszących 5% obj./obj. (V/V), co odpowiada 100% pojemności wymazówki (ang. Swab Capacity, SC); albo w stężeniach 0,03% lub 5% wag./obj. (W/V); albo 4 x 10⁵ komórek/ml w przypadku leukocytów. Panele przygotowano w podłożu STM i oceniano pod kątem potencjalnego wpływu na czułość i swoistość testu. Czułość oceniano odrębnie dla HSV-1 i HSV-2 po dodaniu cząstek wirusa do paneli substancji w stężeniu 3X LoD. Panele HSV-ujemne zawierające każdą substancję badano także pod kątem swoistości.

Nie zaobserwowano wpływu na charakterystykę działania testu w obecności reprezentatywnej marki następujących substancji egzogennych w stężeniu 5% W/V lub V/V (100% SC): środek nawilżający do pochwy; krem przeciwgrzybiczy; środek do płukania; dezodorant dla kobiet; lek na opryszczkę; balsam do ust; balsam do ciała; puder do ciała; roztwór do płukania na bazie lodowatego kwasu octowego; krem na hemoroidy; lek na kaszel; pasta do zębów i płyn do płukania jamy ustnej. Żel plemnikobójczy/antykonceptyjny nie powodował zakłóceń przy stężeniu 4% W/V lub 80% SC. Nie zaobserwowano zakłóceń w obecności reprezentatywnej marki leku przeciwwirusowego w stężeniu 5% W/V. Nie zaobserwowano wpływu na charakterystykę działania dla następujących substancji egzogennych badanych w stężeniu 5% V/V lub W/V (100% SC): mocz, śluz i płyn nasienny. Nie zaobserwowano zakłóceń dla następujących substancji endogennych w następujących końcowych stężeniach: leukocyty (4 x 10⁵ komórek/ml); ślina (4% W/V / 80% SC); białko (4% W/V / 80% SC); pełna krew (0,5% V/V / 10% SC) i kał (0,03% W/V / 0,6% SC).

Tabela 6: Substancje zakłócające

Substancja	Marka/źródło	Stężenie końcowe*.
środek nawilżający do pochwy	KY Jelly	5% V/V
żel plemnikobójczy/antykoncepcyjny	Options Gynol II	4% W/V
krem przeciwgrzybiczy	Monistat 3	5% W/V
środek do płukania	Up & Up Feminine Wash	5% V/V
dezodorant dla kobiet	FDS Feminine Deodorant Spray	5% W/V
lek na opryszczkę	Releev	5% W/V
balsam do ust	Carmex	5% W/V
balsam do ciała	Vaseline Aloe Fresh	5% W/V
puder	Summer's Eve Powder	5% W/V
roztwór do płukania na bazie lodowatego kwasu octowego	roztwór do płukania na bazie lodowatego kwasu octowego	5% V/V
krem na hemoroidy	Preparation H	5% W/V
mocz	Pobieranie moczu w placówce	5% V/V
pełna krew	Pobieranie krwi pełnej w placówce	0,5% V/V
leukocyty	Biological Specialty Corporation Leukocytes	4 x 10 ⁵ komórek/ml
ślina	Pobieranie śliny w placówce	4% W/V
śluz	Sigma Aldrich Mucine	0,3% W/V
płyn nasienny	płyn nasienny	5% V/V
kał	kał	0,03% W/V
lek na kaszel	Dayquil	5% V/V
pastę do zębów	Sensodyne	5% W/V
białko	Kazeina	4% W/V
lek przeciwwirusowy	acyklowir	5% W/V
płyn do płukania jamy ustnej	Listerene	5% V/V

*Stężenia końcowe oznaczają stężenie końcowe (FC) w próbce w czasie testu w aparacie Panther System. W odniesieniu do pobierania SC, 5% FC = 100% SC; 4% FC = 80% SC; 0,5% FC = 10% SC; 0,03% FC = 0,6% SC

Przygotowane próbki z jamy ustnej HSV-2

Test Aptima HSV 1 & 2 assay badano, stosując przygotowaną matrycę próbek klinicznych, aby uzyskać dodatkowe dane o charakterystyce działania w odniesieniu do wykrywania HSV-2 w próbkach pochodzących z jamy ustnej. Cząstki wirusa HSV-2 szczepu MS wprowadzono do HSV-ujemnych matryc próbek klinicznych VTM lub STM pochodzących z jamy ustnej w stężeniu 3X LoD lub 1000X LoD dla odpowiedniego podłoża. Piętnaście powtórzeń próbek HSV-ujemnych, dwadzieścia pięć powtórzeń HSV-2 przy 3X LoD i dwadzieścia pięć powtórzeń HSV-2 przy 1000X LoD dla obu matryc VTM i STM analizowali operatorzy, którzy nie znali składu panelu. Wyniki wykazały 100% detekcję dla przygotowanych paneli zawierających HSV-2-dodatnie próbki z jamy ustnej oraz 0% detekcję wszystkich próbek ujemnych w matrycach klinicznych STM i VTM.

Kliniczna charakterystyka działania aparatu Panther System

Odtwarzalność

Odtwarzalność testu Aptima HSV 1 & 2 assay oceniano w trzech zewnętrznych ośrodkach w USA. Test przeprowadzono z zastosowaniem trzech serii odczynników analitycznych oraz sześciu operatorów (po dwóch w każdym ośrodku). W każdym ośrodku badania prowadzono przez co najmniej sześć dni.

Panele przygotowano, dodając cząstki wirusa HSV-1 i/lub HSV-2 do STM. Końcowe stężenia HSV-1 mieściły się w zakresie od 0 TCID₅₀/ml do 86,96 TCID₅₀/ml, a końcowe stężenia HSV-2 mieściły się w zakresie od 0 TCID₅₀/ml do 1,63 TCID₅₀/ml.

Wiarygodność testu Aptima HSV 1 & 2 assay oceniono, badając panel próbek HSV-ujemnych oraz panel zawierający próbki o niskim i umiarkowanym poziomie HSV-1 i HSV-2. Zgodność z oczekiwanymi wynikami wyniosła 100% dla HSV-1 i HSV-2 w panelu z próbkami ujemnymi i umiarkowanie dodatnimi oraz ≤ 100% w panelu z próbkami ze stężeniem bliskim lub niższym niż 95% LoD testu dla STM z dodatkiem cząstek wirusa.

W Tabeli 7 przedstawiono zgodność wyników testu Aptima HSV 1 & 2 assay z oczekiwanymi wynikami dla wszystkich próbek panelu.

Tabela 7. Zgodność testu Aptima HSV 1 & 2 assay z oczekiwanymi wynikami

Stęż.		Stężenie docelowe (TCID ₅₀ /ml)		Wynik oczekiwany		N	Zgodność (n)		Zgodność (%) (95% CI)	
HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2		HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2
Neg	Neg	0	0	Neg	Neg	108	108	108	100 (96,6–100)	100 (96,6–100)
LPos	Neg	28,90	0	Pos	Neg	108	103	108	95,4 (89,6–98,0)	100 (96,6–100)
Neg	LPos	0	0,54	Neg	Pos	108	108	105	100 (96,6–100)	97,2 (92,1–99,1)
LPos	MPos	28,90	1,63	Pos	Pos	108	97	108	89,8 (82,7–94,2)	100 (96,6–100)
MPos	LPos	86,96	0,54	Pos	Pos	108	108	108	100 (96,6–100)	100 (96,6–100)
HNeg	Neg	3,00	0	Pos	Neg	108	50	108	46,3 (37,2–55,7)	100 (96,6–100)
Neg	HNeg	0	0,20	Neg	Pos	108	108	86	100 (96,6–100)	79,6 (71,1–86,1)

CI = przedział ufności wyniku, Stęż. = stężenie, HNeg = wysokie ujemne, LPos = niskie dodatnie, MPos = umiarkowanie dodatnie, Neg = ujemne, Pos = dodatnie

W Tabeli 8 przedstawiono zmienność sygnału HSV-1 i HSV-2 w próbkach panelu o niskim i umiarkowanie dodatnim stężeniu między ośrodkami, między operatorami, między seriami, między dniami, między próbkami, w obrębie prób oraz ogółem dla próbek panelu z dodatnimi wynikami testu Aptima HSV 1 & 2 assay.

Tabela 8. Zmienność sygnału testu Aptima HSV 1 & 2 assay w próbkach ze stężeniem niskim i umiarkowanie dodatnim

Wirus	Stęż.	N	Średni TTime	Między ośrodkami	Między operatorami	Między seriami	Między dniami	Między próbkami	W obrębie prób	Ogółem
				SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)
HSV-1										
LPos	103	24,68	0	0,23	1,63	0,71	0,54	0,88	2,07	
			(0)	(0,95)	(6,62)	(2,89)	(2,18)	(3,55)	(8,40)	
LPos	97	23,91	0	0	2,18	0,86	0	1,60	2,84	
			(0)	(0)	(9,11)	(3,58)	(0)	(6,71)	(11,87)	
MPos	108	22,96	0	0,22	1,54	0,31	0,68	0,94	1,96	
			(0)	(0,97)	(6,69)	(1,34)	(2,96)	(4,11)	(8,55)	
HSV-2										
LPos	105	25,49	0	0,70	0,84	0	0	2,52	2,74	
			(0)	(2,74)	(3,30)	(0)	(0)	(9,87)	(10,76)	
LPos	108	25,34	0	0	1,54	0,86	0,59	2,67	3,26	
			(0)	(0)	(6,08)	(3,41)	(2,34)	(10,53)	(12,85)	
MPos	108	22,91	0	0	1,09	0,35	0,42	1,06	1,62	
			(0)	(0)	(4,76)	(1,53)	(1,83)	(4,64)	(7,07)	

Stęż. = stężenie, CV = współczynnik zmienności, LPos = niski dodatni, MPos = umiarkowanie dodatni, SD = odchylenie standardowe
 Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna. Może to nastąpić wtedy, gdy zmienność wywołana tymi czynnikami jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD i CV przedstawiono jako 0.

Charakterystyka kliniczna

Przeprowadzono prospektywne, wieloośrodkowe badanie kliniczne w celu określenia charakterystyki działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay. Do badania włączono mężczyzn i kobiety (n = 839) z czynnymi zmianami skórnymi w okolicy narządów płciowych lub odbytu¹ albo jamy ustnej², w 19 ośrodkach klinicznych w USA, do których należały ośrodki planowania rodziny, ośrodki leczenia chorób dermatologicznych, ośrodki leczenia dzieci i młodzieży, ośrodki leczenia chorób przenoszonych drogą płciową, gabinety prywatne, kliniki publiczne, szpitale, uniwersytety i ośrodki badań klinicznych. Z każdej zmiany od każdego uczestnika pobierano dwa (2) wymazy: jeden wymazówką z dostępnego na rynku zestawu do pobierania VTM a drugi wymazówką z zestawu do pobierania Aptima Multitest. Próbkę poddawano obróbce zgodnie z odpowiednią ulotką załączoną do opakowania i badano systemem do hodowli w kierunku wirusów i typowania ELVIS HSV ID and D³ Typing Test oraz poddaną walidacji dwukierunkową procedurę PCR/sekwencjonowanie w celu określenia interpretacji na podstawie złożonej metody referencyjnej dla HSV-1 i HSV-2. Wynik interpretacji złożoną metodą referencyjną został uznany za: A) dodatni, jeżeli wynik systemu do hodowli w kierunku wirusów i typowania ELVIS HSV ID and D³ Typing Test albo PCR/sekwencjonowania był dodatni dla typu HSV (HSV-1 lub HSV-2) albo B) ujemny, jeżeli wynik PCR/sekwencjonowania był ujemny dla jednego typu HSV i wynik systemu ELVIS HSV ID and D³ Typing Test był ujemny (albo dodatni dla drugiego typu HSV³). Próbkę badano zatwierdzonym przez FDA testem w kierunku HSV-1 i HSV-2 w celu określenia typu HSV w następujących sytuacjach: A) metodą PCR/sekwencjonowaniem wykryto HSV-1 i HSV-2 oraz B) połączone wyniki uzyskane złożonymi metodami referencyjnymi były dodatnie dla obu typów HSV.

Kliniczną charakterystykę działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay do wykrywania HSV-1 i HSV-2 oceniano w próbkach pobranych ze zmian znajdujących się w okolicy narządów płciowych i jamy ustnej. Test Aptima HSV 1 & 2 assay wykonano w 3 laboratoriach zewnętrznych. Przeprowadzono 108 prób testu Aptima HSV 1 & 2

¹ Obejmuje jamę brzuszną, odbył, pośladek, szyjkę macicy, napletek, żołędź, pachwinę, wżgórek łonowy, penis (trzon), okolice wokół odbytu, krocze, odbytnicę, mosznę, uda, cewkę moczową/ujście cewki moczowej, pochwę, okolice sromu oraz inne.

² Obejmuje dziąsła, wargi, usta, język oraz inne.

³ System ELVIS HSV ID and D³ Typing Test nie wykrywa próbek z zakażeniami współistniejącymi. Pod kątem HSV-1 mogą być typowane jedynie próbki HSV-2-ujemne.

assay: było 107 (99,1%) prób prawidłowych i 1 próba (0,9%) nie była prawidłowa ze względu na błąd sprzętu. Przebadano 1629 próbek w prawidłowych próbach testu Aptima HSV 1 & 2 assay: dla 1628 (99,9%) uzyskano prawidłowe wyniki końcowe, a dla 1 (0,1%) wynik końcowy był nieprawidłowy ze względu na błąd sprzętu (tej próbki nie badano ponownie ze względu na niewystarczającą objętość). Dla 7 próbek (0,4%) wyniki początkowe były nieprawidłowe, ale 6 z nich przebadano ponownie i wyniki były prawidłowe.

Ogółem, pod kątem możliwości włączenia do analizy charakterystyki działania oceniono 790 uczestników (285 mężczyzn i 505 kobiet); u 544 stwierdzono zmiany w okolicy narządów płciowych i odbytu, a u 246 zmiany w okolicy jamy ustnej.

Ogółem, w odniesieniu do wykrywania HSV-1 i HSV-2 w próbkach pobranych ze zmian w okolicy narządów płciowych i jamy ustnej czułość mieściła się w zakresie od 93,4% do 98,4%, a swoistość w zakresie od 92,8% do 99,8% (Tabele 9 i 10).

W Tabeli 9 przedstawiono czułość, swoistość, dodatnią wartość predykcyjną (ang. positive predictive value, PPV) oraz ujemną wartość predykcyjną (ang. negative predictive value, NPV) testu Aptima HSV 1 & 2 assay do wykrywania HSV-1 oraz prevalencję HSV-1 (na podstawie złożonej metody referencyjnej) w zmianach w okolicy narządów płciowych i odbytu dla każdego typu próbki.

Tabela 9. Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay w odniesieniu do wykrywania HSV-1 w zmianach w okolicy narządów płciowych i odbytu względem typu próbki

Typ próbki	Lokalizacja zmiany	N	TP	FP	TN	FN	Prew. (%)	Czułość % (95% CI) ³	Swoistość % (95% CI) ³	PPV % (95% CI) ⁴	NPV % (95% CI) ⁴
VTM	Okolice narządów płciowych i odbytu	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)
	Okolice narządów płciowych i odbytu: mężczyźni	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)
	Okolice narządów płciowych i odbytu: kobiety	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)
Wymaz Aptima STM	Okolice narządów płciowych i odbytu	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)
	Okolice narządów płciowych i odbytu: mężczyźni	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)
	Okolice narządów płciowych i odbytu: kobiety	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)

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, Prew. = prevalencja, VTM = próbka VTM

¹Dla dwóch próbek stwierdzono ujemne wyniki hodowli, a dla jednej dodatni wynik hodowli bez możliwości określenia typu HSV.

²Dla jednej próbki stwierdzono ujemny wynik hodowli, a dla jednej dodatni wynik hodowli bez możliwości określenia typu HSV.

³CI dla wyniku

⁴95% CI dla PPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla dodatniego stosunku prawdopodobieństwa, 95% CI dla NPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla ujemnego stosunku prawdopodobieństwa

W Tabeli 10 przedstawiono czułość, swoistość, PPV i NPV testu Aptima HSV 1 & 2 assay do wykrywania HSV-2 oraz prevalencję HSV-2 (na podstawie złożonej metody referencyjnej) w zmianach w okolicy narządów płciowych i odbytu dla każdego typu próbki.

Tabela 10. Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay w odniesieniu do wykrywania HSV-2 w zmianach w okolicy narządów płciowych i odbytu względem typu próbki

Typ próbki	Lokalizacja zmiany	N	TP	FP	TN	FN	Prew. (%)	Czułość % (95% CI) ³	Swoistość % (95% CI) ³	PPV % (95% CI) ⁴	NPV % (95% CI) ⁴
VTM	Okolica narządów płciowych i odbytu	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)
	Okolica narządów płciowych i odbytu: mężczyźni	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)
	Okolica narządów płciowych i odbytu: kobiety	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)
Wymaz Aptima STM	Okolica narządów płciowych i odbytu	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)
	Okolica narządów płciowych i odbytu: mężczyźni	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)
	Okolica narządów płciowych i odbytu: kobiety	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)

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, Prew. = prewalencja, VTM = próbka VTM

¹Dla wszystkich osiem próbek stwierdzono ujemne wyniki hodowli.

²Dla wszystkich cztery próbek stwierdzono ujemne wyniki hodowli.

³CI dla wyniku

⁴95% CI dla PPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla dodatniego stosunku prawdopodobieństwa, 95% CI dla NPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla ujemnego stosunku prawdopodobieństwa

Czułość wykrywania HSV-1 w próbkach pobranych z okolicy jamy ustnej wyniosła 97,5% dla wymazów Aptima Multitest i 81,5% dla próbek VTM. W grupie 22 próbek VTM z wynikami fałszywie ujemnymi w kierunku HSV-1 dla 19 próbek stwierdzono ujemne wyniki hodowli (Tabela 13). Czułość wykrywania HSV-1 wyniosła 88,7% dla wymazów Aptima Multitest i 99,2% dla próbek VTM. Dziewięć (9) próbek z 14 wymazów Aptima Multitest z wynikami fałszywie dodatnimi pochodziło z 2 z 17 miejsc pobrania, w których pobierano próbki z jamy ustnej (miejsce 1 i 18, Tabela 17).

W Tabeli 11 przedstawiono czułość, swoistość, PPV i NPV testu Aptima HSV 1 & 2 assay do wykrywania HSV-1 oraz prewalencję HSV-1 (na podstawie złożonej metody referencyjnej) w zmianach w jamie ustnej dla każdego typu próbki.

Tabela 11. Charakterystyka kliniczna działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay w odniesieniu do wykrywania HSV-1 w zmianach w okolicy jamy ustnej względem typu próbki

Typ próbki	N	TP	FP	TN	FN	Prew. (%)	Czułość % (95% CI) ³	Swoistość % (95% CI) ³	PPV % (95% CI) ⁴	NPV % (95% CI) ⁴
VTM	241	97	1	121	22 ¹	49,4	81,5 (73,6–87,5)	99,2 (95,5–99,9)	99,0 (95,0–100)	84,6 (79,3–89,3)
Wymaz Aptima STM	243	116	14	110	3 ²	49,0	97,5 (92,8–99,1)	88,7 (81,9–93,2)	89,2 (83,9–93,5)	97,3 (93,1–99,4)

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, Prew. = prewalencja, VTM = próbka VTM

¹Dla 19 próbek stwierdzono ujemne wyniki hodowli, a dla jednej dodatni wynik hodowli bez możliwości określenia typu HSV.

²Dla wszystkich 3 próbek stwierdzono ujemne wyniki hodowli.

³CI dla wyniku

⁴95% CI dla PPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla dodatniego stosunku prawdopodobieństwa, 95% CI dla NPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla ujemnego stosunku prawdopodobieństwa

Ponieważ większość zakażeń HSV w jamie ustnej jest wywoływana przez HSV-1, prewalencja zakażeń HSV-2 w jamie ustnej była bardzo niska (0,9% do 1,3%) (Tabela 12). W grupie 235 próbek VTM i 237 próbek Aptima Multitest jedynie dla 2 próbek VTM i 3 próbek Aptima Multitest zaobserwowano wyniki dodatnie na podstawie testu referencyjnego. Czulość wykrywania HSV-2 w próbkach pobranych z okolicy jamy ustnej wyniosła 66,7% dla wymazów Aptima Multitest i 100% dla próbek VTM. Dla jednej próbki Aptima Multitest pobranej ze zmiany w jamie ustnej z wynikiem fałszywie ujemnym stwierdzono ujemny wynik hodowli. Jak opisano powyżej, czulość analityczna detekcji HSV-2 na podstawie przygotowanych próbek z jamy ustnej wyniosła 100%. Swiotość detekcji HSV-2 wyniosła 100% dla próbek Aptima Multitest i 100% dla próbek VTM.

W Tabeli 12 przedstawiono czulość, swiotość, PPV i NPV testu Aptima HSV 1 & 2 assay do wykrywania HSV-2 oraz prewalencję HSV-2 (na podstawie złożonej metody referencyjnej) w zmianach w jamie ustnej dla każdego typu próbki.

Tabela 12. Charakterystyka kliniczna działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay w odniesieniu do wykrywania HSV-2 w zmianach w okolicy jamy ustnej względem typu próbki

Typ próbki	N	TP	FP	TN	FN	Prew. (%)	Czulość %	Swoiotość %	PPV %	NPV %
							(95% CI) ²	(95% CI) ²	(95% CI) ³	(95% CI) ³
VTM	235	2	0	233	0	0,9	100 (34,2–100)	100 (98,4–100)	100 (30,1–100)	100 (99,3–100)
Wymaz Aptima STM	237	2	0	234	1 ¹	1,3	66,7 (20,8–93,9)	100 (98,4–100)	100 (29,1–100)	99,6 (98,9–100)

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, Prew. = prewalencja, VTM = próbka VTM

¹Dla tej próbki stwierdzono ujemny wynik hodowli.

²CI dla wyniku

³95% CI dla PPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla dodatniego stosunku prawdopodobieństwa, 95% CI dla NPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla ujemnego stosunku prawdopodobieństwa

W Tabeli 13 przedstawiono wyniki testu Aptima HSV 1 & 2 assay, które były niezgodne z interpretacją złożonej metody referencyjnej dla HSV-1.

Tabela 13. Niezgodne wyniki między interpretacją złożonej metody referencyjnej dla HSV-1 a testem Aptima HSV 1 & 2 assay względem lokalizacji zmiany i typu próbki

Lokalizacja zmiany	Typ próbki	Złożona metoda referencyjna		Wynik testu Aptima HSV 1 & 2 assay	Interpretacja	Liczba
		Wynik hodowli	Wynik PCR/ sekwencjonowania			
Okolice narządów płciowych i odbytu	VTM	Ujemny	Ujemny	Dodatni	Fałszywie dodatni	1
	Wymaz Aptima STM	Ujemny	Ujemny	Dodatni	Fałszywie dodatni	2
Jama ustna	VTM	Ujemny	Ujemny	Dodatni	Fałszywie dodatni	1
	Wymaz Aptima STM	Ujemny	Ujemny	Dodatni	Fałszywie dodatni	14
Okolice narządów płciowych i odbytu	VTM	Ujemny	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	2
	Wymaz Aptima STM	Ujemny	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	1
Jama ustna	VTM	Ujemny	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	19
	Wymaz Aptima STM	Ujemny	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	3
Okolice narządów płciowych i odbytu	VTM	Nieoznaczalne ¹	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	1
	Wymaz Aptima STM	Nieoznaczalne ¹	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	1
Jama ustna	VTM	Nieoznaczalne ¹	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	1
Okolice narządów płciowych i odbytu	VTM	Dodatni	Ujemny	Ujemny	Fałszywie ujemny	2
	Wymaz Aptima STM	Dodatni	Ujemny	Ujemny	Fałszywie ujemny	2
Jama ustna	VTM	Dodatni	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	2

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, VTM = próbka VTM

¹Wynik dodatni w kierunku HSV, nie określono typu.

W Tabeli 14 przedstawiono wyniki testu Aptima HSV 1 & 2 assay, które były niezgodne z interpretacją złożonej metody referencyjnej dla HSV-2.

Tabela 14. Niezgodne wyniki między interpretacją złożonej metody referencyjnej dla HSV-2 a testem Aptima HSV 1 & 2 assay względem lokalizacji zmiany i typu próbki

Lokalizacja zmiany	Typ próbki	Złożona metoda referencyjna		Wynik testu Aptima HSV 1 & 2 assay	Interpretacja	Liczba
		Wynik hodowli	Wynik PCR/ sekwencjonowania			
Okolice narządów płciowych i odbytu	VTM	Ujemny	Ujemny	Dodatni	Fałszywie dodatni	6
		HSV-1 dodatni	Ujemny	Dodatni	Fałszywie dodatni	1
	Wymaz Aptima STM	Ujemny	Ujemny	Dodatni	Fałszywie dodatni	18
		HSV-1 dodatni	Ujemny	Dodatni	Fałszywie dodatni	2
Okolice narządów płciowych i odbytu	VTM	Ujemny	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	8
	Wymaz Aptima STM	Ujemny	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	4
Jama ustna	Wymaz Aptima STM	Ujemny	Dodatni	Ujemny	Fałszywie ujemny	1

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, VTM = próbka VTM

W Tabeli 15 przedstawiono czułość, swoistość, PPV i NPV testu Aptima HSV 1 & 2 assay do wykrywania HSV-1 oraz prevalencję HSV-1 (na podstawie złożonej metody referencyjnej) w zmianach w okolicy narządów płciowych i odbytu dla każdego typu próbki i miejsca pobrania.

Tabela 15. Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay w odniesieniu do wykrywania HSV-1 w zmianach w okolicy narządów płciowych i odbytu względem typu próbki i miejsca pobrania

Typ próbki	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Prew. (%)	Czułość % (95% CI) ¹	Swoistość % (95% CI) ¹	PPV % (95% CI) ²	NPV % (95% CI) ²	
VTM	2	2	1	0	1	0	50,0	100 (20,7–100)	100 (20,7–100)	100 (9,1–100)	100 (9,1–100)	
	3	14	1	0	13	0	7,1	100 (20,7–100)	100 (77,2–100)	100 (6,6–100)	100 (92,8–100)	
	4	6	0	0	6	0	0,0	NC	100 (61,0–100)	NC	100 (NC)	
	5	4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
	6	32	4	0	27	1	15,6	80,0 (37,6–96,4)	100 (87,5–100)	100 (54,6–100)	96,4 (88,3–99,9)	
	7	7	0	0	7	0	0,0	NC	100 (64,6–100)	NC	100 (NC)	
	8	67	6	0	60	1	10,4	85,7 (48,7–97,4)	100 (94,0–100)	100 (64,6–100)	98,4 (93,7–100)	
	9	25	0	0	25	0	0,0	NC	100 (86,7–100)	NC	100 (NC)	
	10	8	0	0	8	0	0,0	NC	100 (67,6–100)	NC	100 (NC)	
	11	193	33	0	159	1	17,6	97,1 (85,1–99,5)	100 (97,6–100)	100 (90,3–100)	99,4 (96,8–100)	
	12	27	12	0	15	0	44,4	100 (75,8–100)	100 (79,6–100)	100 (78,6–100)	100 (82,5–100)	
	13	38	7	0	30	1	21,1	87,5 (52,9–97,8)	100 (88,6–100)	100 (68,6–100)	96,8 (87,7–99,9)	
	14	4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
	15	4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
	17	46	3	1	41	1	8,7	75,0 (30,1–95,4)	97,6 (87,7–99,6)	75,0 (26,3–98,8)	97,6 (92,8–99,9)	
	18	50	4	0	46	0	8,0	100 (51,0–100)	100 (92,3–100)	100 (53,0–100)	100 (95,0–100)	
	19	1	0	0	1	0	0,0	NC	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	
	Wymaz Aptima STM	2	2	1	0	1	0	50,0	100 (20,7–100)	100 (20,7–100)	100 (9,1–100)	100 (9,1–100)
		3	14	1	0	13	0	7,1	100 (20,7–100)	100 (77,2–100)	100 (6,6–100)	100 (92,8–100)
4		5	0	0	5	0	0,0	NC	100 (56,6–100)	NC	100 (NC)	
5		3	0	0	3	0	0,0	NC	100 (43,9–100)	NC	100 (NC)	
6		32	4	0	27	1	15,6	80,0 (37,6–96,4)	100 (87,5–100)	100 (54,6–100)	96,4 (88,3–99,9)	
7		7	0	0	7	0	0,0	NC	100 (64,6–100)	NC	100 (NC)	
8		70	7	0	62	1	11,4	87,5 (52,9–97,8)	100 (94,2–100)	100 (68,0–100)	98,4 (93,6–100)	
9		26	0	0	26	0	0,0	NC	100 (87,1–100)	NC	100 (NC)	
10		8	0	0	8	0	0,0	NC	100 (67,6–100)	NC	100 (NC)	
11		193	32	0	160	1	17,1	97,0 (84,7–99,5)	100 (97,7–100)	100 (90,0–100)	99,4 (96,9–100)	
12		27	12	0	15	0	44,4	100 (75,8–100)	100 (79,6–100)	100 (78,6–100)	100 (82,5–100)	
13		38	7	0	30	1	21,1	87,5 (52,9–97,8)	100 (88,6–100)	100 (68,6–100)	96,8 (87,7–99,9)	
14		4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
15		4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
17		47	4	2	41	0	8,5	100 (51,0–100)	95,3 (84,5–98,7)	66,7 (35,1–94,2)	100 (94,6–100)	
18		50	3	0	47	0	6,0	100 (43,9–100)	100 (92,4–100)	100 (45,1–100)	100 (95,7–100)	
19		1	0	0	1	0	0,0	NC	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, NC (ang. not calculable) = niemożliwe do obliczenia, Prew. = prevalencja, VTM = próbka VTM

¹CI dla wyniku

²95% CI dla PPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla dodatniego stosunku prawdopodobieństwa, 95% CI dla NPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla ujemnego stosunku prawdopodobieństwa

Uwaga: W ośrodkach 1 i 16 nie włączono żadnych uczestników ze zmianami należącymi do kategorii zmian w okolicy narządów płciowych i odbytu.

W Tabeli 16 przedstawiono czułość, swoistość, PPV i NPV testu Aptima HSV 1 & 2 assay do wykrywania HSV-2 oraz prevalencję HSV-2 (na podstawie złożonej metody referencyjnej) w zmianach w okolicy narządów płciowych i odbytu dla każdego typu próbki i miejsca pobrania.

Tabela 16. Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay w odniesieniu do wykrywania HSV-2 w zmianach w okolicy narządów płciowych i odbytu względem typu próbki i miejsca pobrania

Typ próbki	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Prew. (%)	Czułość % (95% CI) ¹	Swoistość % (95% CI) ¹	PPV % (95% CI) ²	NPV % (95% CI) ²	
VTM	2	2	1	0	1	0	50,0	100 (20,7–100)	100 (20,7–100)	100 (9,1–100)	100 (9,1–100)	
	3	14	8	1	5	0	57,1	100 (67,6–100)	83,3 (43,6–97,0)	88,9 (67,5–99,7)	100 (63,8–100)	
	4	7	4	0	3	0	57,1	100 (51,0–100)	100 (43,9–100)	100 (63,7–100)	100 (51,9–100)	
	5	4	2	0	2	0	50,0	100 (34,2–100)	100 (34,2–100)	100 (38,7–100)	100 (38,7–100)	
	6	32	15	1	16	0	46,9	100 (79,6–100)	94,1 (73,0–99,0)	93,8 (75,5–99,8)	100 (83,7–100)	
	7	7	5	0	2	0	71,4	100 (56,6–100)	100 (34,2–100)	100 (73,4–100)	100 (33,9–100)	
	8	66	24	1	40	1	37,9	96,0 (80,5–99,3)	97,6 (87,4–99,6)	96,0 (82,5–99,9)	97,6 (88,9–99,9)	
	9	26	15	0	10	1	61,5	93,8 (71,7–98,9)	100 (72,2–100)	100 (83,7–100)	90,9 (67,4–99,7)	
	10	8	3	0	5	0	37,5	100 (43,9–100)	100 (56,6–100)	100 (50,6–100)	100 (69,7–100)	
	11	194	94	2	94	4	50,5	95,9 (90,0–98,4)	97,9 (92,7–99,4)	97,9 (93,2–99,7)	95,9 (90,6–98,8)	
	12	29	7	0	22	0	24,1	100 (64,6–100)	100 (85,1–100)	100 (67,3–100)	100 (88,5–100)	
	13	38	13	0	25	0	34,2	100 (77,2–100)	100 (86,7–100)	100 (79,1–100)	100 (88,6–100)	
	14	4	1	0	3	0	25,0	100 (20,7–100)	100 (43,9–100)	100 (7,3–100)	100 (65,0–100)	
	15	4	2	0	2	0	50,0	100 (34,2–100)	100 (34,2–100)	100 (38,7–100)	100 (38,7–100)	
	17	46	22	1	22	1	50,0	95,7 (79,0–99,2)	95,7 (79,0–99,2)	95,7 (81,9–99,9)	95,7 (81,9–99,9)	
	18	51	31	1	18	1	62,7	96,9 (84,3–99,4)	94,7 (75,4–99,1)	96,9 (86,6–99,9)	94,7 (78,4–99,8)	
	19	1	1	0	0	0	100,0	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	NC	
	Wymaz Aptima STM	2	2	1	0	1	0	50,0	100 (20,7–100)	100 (20,7–100)	100 (9,1–100)	100 (9,1–100)
		3	14	8	1	5	0	57,1	100 (67,6–100)	83,3 (43,6–97,0)	88,9 (67,5–99,7)	100 (63,8–100)
4		5	2	0	3	0	40,0	100 (34,2–100)	100 (43,9–100)	100 (36,2–100)	100 (57,4–100)	
5		3	1	0	2	0	33,3	100 (20,7–100)	100 (34,2–100)	100 (7,8–100)	100 (45,1–100)	
6		32	15	2	15	0	46,9	100 (79,6–100)	88,2 (65,7–96,7)	88,2 (70,8–98,4)	100 (83,3–100)	
7		7	5	0	2	0	71,4	100 (56,6–100)	100 (34,2–100)	100 (73,4–100)	100 (33,9–100)	
8		69	27	3	39	0	39,1	100 (87,5–100)	92,9 (81,0–97,5)	90,0 (76,7–97,7)	100 (92,3–100)	
9		27	16	1	9	1	63,0	94,1 (73,0–99,0)	90,0 (59,6–98,2)	94,1 (78,9–99,8)	90,0 (65,8–99,6)	
10		8	3	1	4	0	37,5	100 (43,9–100)	80,0 (37,6–96,4)	75,0 (37,9–99,2)	100 (62,9–100)	
11		194	97	5	91	1	50,5	99,0 (94,4–99,8)	94,8 (88,4–97,8)	95,1 (89,7–98,3)	98,9 (94,5–100)	
12		29	7	1	21	0	24,1	100 (64,6–100)	95,5 (78,2–99,2)	87,5 (58,2–99,6)	100 (88,4–100)	
13		38	13	2	23	0	34,2	100 (77,2–100)	92,0 (75,0–97,8)	86,7 (66,6–98,2)	100 (88,4–100)	
14		4	1	1	2	0	25,0	100 (20,7–100)	66,7 (20,8–93,9)	50,0 (3,1–97,5)	100 (41,4–100)	
15		4	1	0	2	1	50,0	50,0 (9,5–90,5)	100 (34,2–100)	100 (7,8–100)	66,7 (24,0–98,8)	
17		47	23	2	21	1	51,1	95,8 (79,8–99,3)	91,3 (73,2–97,6)	92,0 (78,7–98,8)	95,5 (81,4–99,9)	
18		51	32	1	18	0	62,7	100 (89,3–100)	94,7 (75,4–99,1)	97,0 (86,6–99,9)	100 (84,4–100)	
19		1	1	0	0	0	100,0	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	NC	

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, NC (ang. not calculable) = niemożliwe do obliczenia, Prew. = prevalencja, VTM = próbka VTM

¹CI dla wyniku

²95% CI dla PPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla dodatniego stosunku prawdopodobieństwa, 95% CI dla NPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla ujemnego stosunku prawdopodobieństwa

Uwaga: W ośrodkach 1 i 16 nie włączono żadnych uczestników ze zmianami należącymi do kategorii zmian w okolicy narządów płciowych i odbytu.

W Tabeli 17 przedstawiono czułość, swoistość, PPV i NPV testu Aptima HSV 1 & 2 assay do wykrywania HSV-1 oraz prevalencję HSV-1 (na podstawie złożonej metody referencyjnej) w zmianach w jamie ustnej dla każdego typu próbki i miejsca pobrania.

Tabela 17. Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay w odniesieniu do wykrywania HSV-1 w zmianach w okolicy jamy ustnej względem typu próbki i miejsca pobrania

Typ próbki	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Prew. (%)	Czułość % (95% CI) ¹	Swoistość % (95% CI) ¹	PPV % (95% CI) ²	NPV % (95% CI) ²	
VTM	1	11	7	0	4	0	63,6	100 (64,6–100)	100 (51,0–100)	100 (74,4–100)	100 (58,0–100)	
	3	14	3	0	10	1	28,6	75,0 (30,1–95,4)	100 (72,2–100)	100 (47,0–100)	90,9 (75,5–99,7)	
	4	15	10	0	5	0	66,7	100 (72,2–100)	100 (56,6–100)	100 (79,3–100)	100 (61,8–100)	
	5	4	2	0	2	0	50,0	100 (34,2–100)	100 (34,2–100)	100 (38,7–100)	100 (38,7–100)	
	7	1	0	0	0	1	100,0	0,0 (0,0–79,3)	NC	NC	0,0 (NC)	
	8	7	3	0	3	1	57,1	75,0 (30,1–95,4)	100 (43,9–100)	100 (49,2–100)	75,0 (39,0–99,2)	
	9	1	1	0	0	0	100,0	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	NC	
	10	7	3	0	4	0	42,9	100 (43,9–100)	100 (51,0–100)	100 (51,9–100)	100 (63,7–100)	
	11	38	9	0	29	0	23,7	100 (70,1–100)	100 (88,3–100)	100 (72,2–100)	100 (90,6–100)	
	12	2	0	0	2	0	0,0	NC	100 (34,2–100)	NC	100 (NC)	
	13	2	0	0	2	0	0,0	NC	100 (34,2–100)	NC	100 (NC)	
	14	12	3	0	8	1	33,3	75,0 (30,1–95,4)	100 (67,6–100)	100 (47,7–100)	88,9 (70,7–99,7)	
	15	66	39	1	17	9	72,7	81,3 (68,1–89,8)	94,4 (74,2–99,0)	97,5 (89,5–99,9)	65,4 (51,7–79,4)	
	16	24	9	0	13	2	45,8	81,8 (52,3–94,9)	100 (77,2–100)	100 (75,5–100)	86,7 (69,5–98,1)	
	17	4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
	18	31	7	0	17	7	45,2	50,0 (26,8–73,2)	100 (81,6–100)	100 (69,7–100)	70,8 (61,2–84,1)	
	19	2	1	0	1	0	50,0	100 (20,7–100)	100 (20,7–100)	100 (9,1–100)	100 (9,1–100)	
	Wymaz Aptima STM	1	12	7	4	1	0	58,3	100 (64,6–100)	20,0 (3,6–62,4)	63,6 (50,6–83,2)	100 (6,8–100)
		3	14	4	1	9	0	28,6	100 (51,0–100)	90,0 (59,6–98,2)	80,0 (43,1–99,4)	100 (79,8–100)
4		15	10	0	5	0	66,7	100 (72,2–100)	100 (56,6–100)	100 (79,3–100)	100 (61,8–100)	
5		4	2	0	2	0	50,0	100 (34,2–100)	100 (34,2–100)	100 (38,7–100)	100 (38,7–100)	
7		1	1	0	0	0	100,0	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	NC	
8		7	4	0	3	0	57,1	100 (51,0–100)	100 (43,9–100)	100 (63,7–100)	100 (51,9–100)	
9		1	1	0	0	0	100,0	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	NC	
10		7	3	0	4	0	42,9	100 (43,9–100)	100 (51,0–100)	100 (51,9–100)	100 (63,7–100)	
11		39	9	0	30	0	23,1	100 (70,1–100)	100 (88,6–100)	100 (72,2–100)	100 (90,8–100)	
12		1	0	0	1	0	0,0	NC	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	
13		2	0	0	2	0	0,0	NC	100 (34,2–100)	NC	100 (NC)	
14		11	2	1	7	1	27,3	66,7 (20,8–93,9)	87,5 (52,9–97,8)	66,7 (18,4–98,3)	87,5 (69,0–99,5)	
15		66	46	2	16	2	72,7	95,8 (86,0–98,8)	88,9 (67,2–96,9)	95,8 (88,4–99,4)	88,9 (71,0–98,3)	
16		25	11	1	13	0	44,0	100 (74,1–100)	92,9 (68,5–98,7)	91,7 (69,9–99,8)	100 (81,5–100)	
17		4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
18		32	15	5	12	0	46,9	100 (79,6–100)	70,6 (46,9–86,7)	75,0 (61,2–89,5)	100 (80,6–100)	
19		2	1	0	1	0	50,0	100 (20,7–100)	100 (20,7–100)	100 (9,1–100)	100 (9,1–100)	

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, NC (ang. not calculable) = niemożliwe do obliczenia, Prew. = prevalencja, VTM = próbka VTM

Uwaga: W ośrodkach 2 i 6 nie włączono żadnych uczestników ze zmianami należącymi do kategorii zmian w okolicy jamy ustnej.

¹CI dla wyniku

²95% CI dla PPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla dodatniego stosunku prawdopodobieństwa, 95% CI dla NPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla ujemnego stosunku prawdopodobieństwa

W Tabeli 18 przedstawiono czułość, swoistość, PPV i NPV testu Aptima HSV 1 & 2 assay do wykrywania HSV-2 oraz prevalencję HSV-2 (na podstawie złożonej metody referencyjnej) w zmianach w jamie ustnej dla każdego typu próbki i miejsca pobrania.

Tabela 18. Kliniczna charakterystyka działania testu Aptima HSV 1 & 2 assay w odniesieniu do wykrywania HSV-2 w zmianach w okolicy jamy ustnej względem typu próbki i miejsca pobrania

Typ próbki	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Prew. (%)	Czułość % (95% CI) ¹	Swoistość % (95% CI) ¹	PPV % (95% CI) ²	NPV % (95% CI) ²	
VTM	1	11	0	0	11	0	0,0	NC	100 (74,1–100)	NC	100 (NC)	
	3	14	1	0	13	0	7,1	100 (20,7–100)	100 (77,2–100)	100 (6,6–100)	100 (92,8–100)	
	4	13	0	0	13	0	0,0	NC	100 (77,2–100)	NC	100 (NC)	
	5	4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
	7	1	0	0	1	0	0,0	NC	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	
	8	7	0	0	7	0	0,0	NC	100 (64,6–100)	NC	100 (NC)	
	9	1	0	0	1	0	0,0	NC	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	
	10	7	0	0	7	0	0,0	NC	100 (64,6–100)	NC	100 (NC)	
	11	38	0	0	38	0	0,0	NC	100 (90,8–100)	NC	100 (NC)	
	12	2	0	0	2	0	0,0	NC	100 (34,2–100)	NC	100 (NC)	
	13	2	0	0	2	0	0,0	NC	100 (34,2–100)	NC	100 (NC)	
	14	12	1	0	11	0	8,3	100 (20,7–100)	100 (74,1–100)	100 (6,6–100)	100 (91,5–100)	
	15	63	0	0	63	0	0,0	NC	100 (94,3–100)	NC	100 (NC)	
	16	24	0	0	24	0	0,0	NC	100 (86,2–100)	NC	100 (NC)	
	17	4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
	18	30	0	0	30	0	0,0	NC	100 (88,6–100)	NC	100 (NC)	
	19	2	0	0	2	0	0,0	NC	100 (34,2–100)	NC	100 (NC)	
	Wymaz Aptima STM	1	12	0	0	12	0	0,0	NC	100 (75,8–100)	NC	100 (NC)
		3	14	1	0	13	0	7,1	100 (20,7–100)	100 (77,2–100)	100 (6,6–100)	100 (92,8–100)
4		13	0	0	13	0	0,0	NC	100 (77,2–100)	NC	100 (NC)	
5		4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
7		1	0	0	1	0	0,0	NC	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	
8		7	0	0	7	0	0,0	NC	100 (64,6–100)	NC	100 (NC)	
9		1	0	0	1	0	0,0	NC	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	
10		7	0	0	7	0	0,0	NC	100 (64,6–100)	NC	100 (NC)	
11		39	0	0	38	1	2,6	0,0 (0,0–79,3)	100 (90,8–100)	NC	97,4 (96,8–99,9)	
12		1	0	0	1	0	0,0	NC	100 (20,7–100)	NC	100 (NC)	
13		2	0	0	2	0	0,0	NC	100 (34,2–100)	NC	100 (NC)	
14		11	1	0	10	0	9,1	100 (20,7–100)	100 (72,2–100)	100 (6,7–100)	100 (90,6–100)	
15		63	0	0	63	0	0,0	NC	100 (94,3–100)	NC	100 (NC)	
16		25	0	0	25	0	0,0	NC	100 (86,7–100)	NC	100 (NC)	
17		4	0	0	4	0	0,0	NC	100 (51,0–100)	NC	100 (NC)	
18		31	0	0	31	0	0,0	NC	100 (89,0–100)	NC	100 (NC)	
19		2	0	0	2	0	0,0	NC	100 (34,2–100)	NC	100 (NC)	

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, NC (ang. not calculable) = niemożliwe do obliczenia, Prew. = prevalencja, VTM = próbka VTM

¹CI dla wyniku

²95% CI dla PPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla dodatniego stosunku prawdopodobieństwa, 95% CI dla NPV obliczony na podstawie dokładnego 95% CI dla ujemnego stosunku prawdopodobieństwa

Uwaga: W ośrodkach 2 i 6 nie włączono żadnych uczestników ze zmianami należącymi do kategorii zmian w okolicy jamy ustnej.

Zakres referencyjny i wartości oczekiwane

Prewalencja

Prewalencja HSV-1 i HSV-2 w różnych populacjach zależy od czynników ryzyka pacjenta, takich jak wiek, styl życia oraz czułość testu w odniesieniu do wykrywania zakażenia. W Tabeli 19 przedstawiono prewalencję HSV-1 i HSV-2 w zależności od typu próbki i grupy wiekowej na podstawie testu Aptima HSV 1 & 2 assay w badaniu dotyczącym klinicznej charakterystyki działania.

Tabela 19. Wynik dodatni w teście Aptima HSV 1 & 2 assay w odniesieniu do kategorii lokalizacji zmiany i grupy wiekowej¹

Lokalizacja zmiany Grupa wiekowa	% Prewalencja (# dodatnich/# badanych)			
	Próbka VTM		Próbki wymazów Aptima Multitest	
	HSV-1 dodatni	HSV-2 dodatni	HSV-1 dodatni	HSV-2 dodatni
Wszystkie lokalizacje zmian				
Wszystkie grupy wiekowe	21,9 (170/778)	33,0 (257/778)	26,0 (203/782)	35,3 (276/782)
< 2 lat	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)
od 2 do 11 lat	30,8 (4/13)	0,0 (0/13)	50,0 (7/14)	0,0 (0/14)
od 12 do 21 lat	21,5 (23/107)	40,2 (43/107)	24,8 (27/109)	42,2 (46/109)
od 22 do 30 lat	18,9 (63/334)	36,8 (123/334)	21,4 (72/337)	39,5 (133/337)
od 31 do 40 lat	20,7 (30/145)	33,8 (49/145)	27,3 (39/143)	35,7 (51/143)
od 41 do 50 lat	22,7 (17/75)	26,7 (20/75)	25,7 (19/74)	28,4 (21/74)
od 51 do 60 lat	30,9 (21/68)	22,1 (15/68)	37,7 (26/69)	24,6 (17/69)
> 60 lat	32,3 (10/31)	22,6 (7/31)	35,5 (11/31)	25,8 (8/31)
Zmiany w okolicy narządów płciowych i odbytu				
Wszystkie grupy wiekowe	13,4 (72/537)	47,5 (255/537)	13,5 (73/539)	50,8 (274/539)
< 2 lat	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
od 2 do 11 lat	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
od 12 do 21 lat	20,7 (17/82)	52,4 (43/82)	20,2 (17/84)	54,8 (46/84)
od 22 do 30 lat	14,2 (38/268)	45,5 (122/268)	14,4 (39/270)	48,9 (132/270)
od 31 do 40 lat	11,5 (12/104)	47,1 (49/104)	12,6 (13/103)	49,5 (51/103)
od 41 do 50 lat	9,1 (4/44)	45,5 (20/44)	4,8 (2/42)	50,0 (21/42)
od 51 do 60 lat	3,7 (1/27)	51,9 (14/27)	7,1 (2/28)	57,1 (16/28)
> 60 lat	0,0 (0/10)	70,0 (7/10)	0,0 (0/10)	80,0 (8/10)
Zmiany w jamie ustnej				
Wszystkie grupy wiekowe	40,7 (98/241)	0,8 (2/241)	53,5 (130/243)	0,8 (2/243)
< 2 lat	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)
od 2 do 11 lat	33,3 (4/12)	0,0 (0/12)	53,8 (7/13)	0,0 (0/13)
od 12 do 21 lat	24,0 (6/25)	0,0 (0/25)	40,0 (10/25)	0,0 (0/25)
od 22 do 30 lat	37,9 (25/66)	1,5 (1/66)	49,3 (33/67)	1,5 (1/67)
od 31 do 40 lat	43,9 (18/41)	0,0 (0/41)	65,0 (26/40)	0,0 (0/40)
od 41 do 50 lat	41,9 (13/31)	0,0 (0/31)	53,1 (17/32)	0,0 (0/32)
od 51 do 60 lat	48,8 (20/41)	2,4 (1/41)	58,5 (24/41)	2,4 (1/41)
> 60 lat	47,6 (10/21)	0,0 (0/21)	52,4 (11/21)	0,0 (0/21)

¹U żadnego uczestnika nie stwierdzono dodatniego wyniku testu Aptima HSV 1 & 2 assay w kierunku zarówno HSV-1, jak i HSV-2.

Dodatnie i ujemne wartości predykcyjne dla hipotetycznych wskaźników prevalencji

W Tabeli 20 przedstawiono szacowane dodatnie i ujemne wartości predykcyjne (PPV i NPV) dla testu Aptima HSV 1 & 2 assay w odniesieniu do wykrywania HSV-1 i HSV-2 dla różnych hipotetycznych wskaźników prevalencji dla każdego typu próbki. Te obliczenia oparto na ogólnej szacowanej czułości i swoistości dla każdego typu próbki, zgodnie z danymi z badania dotyczącego klinicznej charakterystyki działania.

Tabela 20. Hipotetyczne wartości PPV i NPV w odniesieniu do wykrywania HSV-1 i HSV-2 względem kategorii typ próbki i lokalizacja zmian

Typ próbki	Lokalizacja zmiany	Prewalencja (%)	HSV-1		HSV-2			
			PPV (%)	NPV (%)	PPV (%)	NPV (%)		
Próbka VTM	Okolice narządów płciowych i odbytu	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		
		Jama ustna	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		
	Wymaz Aptima STM		Okolice narządów płciowych i odbytu	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		
Jama ustna		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			

Wymaz Aptima STM = wymaz Aptima Multitest, VTM = próbka VTM

Rozkład TTime dla kontroli dodatnich w teście Aptima HSV 1 & 2 assay

W Tabeli 21 przedstawiono rozkład wartości TTime dla kontroli dodatniej w teście Aptima HSV 1 & 2 assay ze wszystkich prawidłowych prób testu Aptima HSV 1 & 2 assay przeprowadzonych w czasie badania dotyczącego klinicznej charakterystyki działania.

Tabela 21. Rozkład TTime dla kontroli dodatnich w teście Aptima HSV 1 & 2 assay

Statystyka	TTime	
	HSV-1	HSV-2
N	107	107
Średnia	20,03	22,01
Mediana	19,8	21,7
SD	1,198	1,612
CV (%)	6,0	7,3
Wartość minimalna	18,1	19,5
Wartość maksymalna	22,9	26,2

CV = współczynnik zmienności, SD = odchylenie standardowe

Bibliografia

1. **Gupta R., T. Warren, A. Wald.** 2007. Genital Herpes. *The Lancet* 370: 2127-2137.
2. **Bradley H., L. Markowitz, T. Gibson, G. McQuillan.** 2014. Seroprevalence of Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 United States, 1999-2010. *Journal of Infectious Diseases* (JID) 209: 325-333.
3. **Whitley R., B. Roizman.** 2001. Herpes Simplex Virus Infections. *The Lancet* 357: 1513-1518.
4. **LeGoff J., H. Péré, L. Bélec.** 2014. Diagnosis of Genital Herpes Simplex Virus Infection in the Clinical Laboratory. *Virology Journal* 11: 83-99.
5. **Wald A., K. Link.** 2002. Risk of Human Immunodeficiency Virus Infection in Herpes Simplex Virus Type 2- Seropositive Persons: A Meta-Analysis. *Journal of Infectious Diseases* (JID) 185: 45-52).
6. **Brown A., A. Wald, R. Morrow, S. Selke, J. Zeh, L. Corey.** 2003. Effect of Serologic Status and Cesarean Delivery on Transmission Rates of Herpes Simplex Virus from Mother to Infant. *The Journal of the American Medical Association* (JAMA) 289(2): 203-209.
7. **Ashley RL., A. Wald.** 1999. Genital Herpes: Review of the Epidemic and Potential Use of Type-Specific Serology. *Clinical Microbiology Reviews* 12: 1-8.
8. **Swenson i wsp.** 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 dokument MM13-A. Wayne, PA.
11. **29 CFR część 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); wersja bieżąca.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI dokument GP5-A2. Villanova, PA.



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

Informacje kontaktowe w USA i międzynarodowe:
Dział obsługi klienta: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com
Wsparcie techniczne: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Więcej informacji kontaktowych zamieszczono na stronie www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther i powiązane logo są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub spółek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem USA, przedstawionym na stronie www.hologic.com/patents.

© 2017 Hologic, Inc.
AW-15346-3401 wer. 002
2017-06