

## Test Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2

Instrukcja użycia  
Do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.  
Tylko na eksport poza USA

<b>Informacje ogólne</b> .....	<b>2</b>
Przeznaczenie.....	2
Podsumowanie i objaśnienie testu.....	2
Zasady procedury.....	3
Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej.....	4
Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi.....	6
Pobieranie i przechowywanie próbek.....	6
<b>Panther System</b> .....	<b>9</b>
Dostarczone odczynniki i materiały.....	9
Materiały wymagane, ale dostępne osobno.....	10
Procedura testu w Panther System.....	11
Uwagi dotyczące procedury.....	14
<b>Kontrola jakości</b> .....	<b>15</b>
<b>Interpretacja testu</b> .....	<b>16</b>
<b>Ograniczenia</b> .....	<b>17</b>
<b>Charakterystyka testu analitycznego Panther System</b> .....	<b>18</b>
Podłoże transportowe do przenoszenia wirusów (VTM).....	18
Czułość analityczna.....	18
Weryfikacja granicy wykrywalności (LoD).....	18
Zakażenia współistniejące.....	19
Reaktywność krzyżowa.....	19
Interferencja.....	20
Powtarzalność.....	22
Przygotowane próbki z jamy ustnej HSV-2.....	23
<b>Charakterystyka kliniczna działania aparatu Panther System</b> .....	<b>24</b>
Charakterystyka kliniczna.....	24
Zakres referencyjny i wartości oczekiwane.....	27
<b>Bibliografia</b> .....	<b>30</b>
<b>Informacje kontaktowe i historia wersji</b> .....	<b>31</b>

## Informacje ogólne

### Przeznaczenie

Test Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (test Aptima HSV 1 i 2) jest testem *in vitro* amplifikującym kwasy nukleinowe w czasie rzeczywistym (NAAT), stosowanym do jakościowego wykrywania i różnicowania matrycowego RNA (mRNA) od wirusów opryszczki pospolitej (HSV) typu 1 (HSV-1) i typu 2 (HSV-2) w systemie Panther™.

Test może być używany do badania pobranych przez klinicystów wymazów ze zmian skórnych w okolicy narządów płciowych i odbytu oraz jamy ustnej i umieszczonych na podłożu transportowym do przenoszenia wirusów (VTM) lub podłożu do transportu próbek Aptima (STM). Celem testu jest wspomaganie diagnostyki zakażeń HSV-1 lub HSV-2 u wykazujących objawy pacjentów płci męskiej i żeńskiej.

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 z dwuniciowym DNA, należące do podrodziny Alphaherpesvirinae. Mimo że wirusy HSV-1 i HSV-2 są ze sobą blisko spokrewnione, różnią się od siebie genetycznie i serologicznie (1). W latach 2005–2010 w Stanach Zjednoczonych seroprewalencja wirusa HSV-1 wynosiła 53,9%, a wirusa HSV-2 – 15,7% (2).

Wirusy HSV-1 i HSV-2 zazwyczaj atakują otarcia na skórze lub błony śluzowe jamy ustnej bądź narządów płciowych, powodując bolesne zmiany. Po pierwszej fazie objawów wirusy te wywołują zakażenie utajone w zwojach nerwów czuciowych, powodując nieuleczalne dożywotnie zakażenie u ludzi. 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 jest testem NAAT opracowanym do zastosowania w automatycznym aparacie Panther System, który wykorzystuje wychwytywanie cząstek docelowych (ang. target capture),

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 polega na amplifikacji i wykrywaniu mRNA dla wirusów HSV-1 i HSV-2 (8). RNA z genomu wirusa ulegają ekspresji w trakcie cyklu zakażenia i znajdują się wewnątrz cząstek wirusa HSV-1 i HSV-2 przed uwolnieniem wirusa z zakażonych komórek (9). Tym samym test Aptima HSV 1 & 2 może wykrywać zakażone wirusem komórki oraz same cząstki dojrzałego wirusa.

## Zasady procedury

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

Próbki są zbierane albo przenoszone do probówki zawierającej podłoże STM, które powoduje lizę komórek, uwalnianie mRNA, a także chroni przed rozkładem w czasie przechowywania. Po wykonaniu testu Aptima HSV 1 & 2 docelowe mRNA jest izolowane z próbki dzięki zastosowaniu odpowiedzialnych za wychwyty oligomerów połączonych z mikrocząsteczkami magnetycznymi. Oligomery odpowiedzialne za wychwyty 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 wychwyty wiążą się ze swoistymi obszarami cząsteczki docelowej mRNA HSV. Następnie kompleks oligomer odpowiedzialny za wykrywanie:cząsteczka szukana jest wychwytywany z roztworu dzięki obniżeniu temperatury reakcji do temperatury pokojowej. Ten spadek temperatury umożliwia hybrydyzację między obszarem deoksyadenozyny oligomeru odpowiedzialnego za wychwyty i cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząsteczkami magnetycznymi. Mikrocząstki zawierające związane z nimi cząsteczki docelowego mRNA HSV są przeciągane na bok probówki reakcyjnej magnesami, a supernatant podlega aspiracji. Cząsteczki są przepłukiwane, aby usunąć pozostałości matrycy komórkowej próbki, która może zawierać inhibitory amplifikacji.

Po zakończeniu target capture 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 wykorzystywana do produkcji kopii DNA szukanej sekwencji mRNA zawierającej sekwencję promotora dla polimerazy RNA bakteriofaga T7. Polimeraza RNA bakteriofaga T7 produkuje liczne kopie amplikonu RNA na podstawie matrycy kopii DNA.

Wykrywanie 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.

## Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej

SPP (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej, ang. Summary of Safety and Performance) jest dostępne w europejskiej bazie danych wyrobów medycznych (Eudamed), gdzie jest powiązane z identyfikatorami wyrobu (Basic UDI-DI). W celu zlokalizowania SSP testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1&2 należy użyć podstawowego unikalnego identyfikatora wyrobu (Basic Unique Device Identifier, BUDI): **54200455DIAGAPTHSV12S7**.

## Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do diagnostyki *in vitro*.
- B. Do użycia przez profesjonalistów.
- C. Aby zmniejszyć ryzyko uzyskania nieważnych wyników, przed wykonaniem tego testu należy uważnie przeczytać całą ulotkę załączoną do opakowania oraz *Instrukcję obsługi systemu Panther/Panther Fusion System*.

## Kwestie związane z laboratorium

- D. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- E. 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 bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
- F. 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).
- G. Należy zutylizować 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

- H. 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.
- I. próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych 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 oraz z zakresu pracy z materiałem zakaźnym.
- J. W trakcie transportu próbek zapewnić prawidłowe warunki przechowywania, pozwoli to zachować ich prawidłowy stan. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- K. W czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć kontaminacji poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu w czasie odkręcania lub zdejmowania zakrętek z próbek. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie mikroorganizmów. Należy dopilnować, aby pojemniki na próbki nie stykały się ze sobą, a zużyte materiały wyrzucić bez przesuwania ich nad jakimikolwiek otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.

- L. W pewnych warunkach po przekłuciu spod zakrętek probówek transportowych Aptima może uwolnić się płyn. Więcej informacji można znaleźć w odpowiedniej *Procedurze testu*.
- M. Jeśli laboratorium otrzyma próbkę transportową na próbkę Aptima Multitest bez wymazu, z dwoma wymazami lub wymazem niedostarczoną przez firmę Hologic, próbkę taką należy odrzucić.

### Kwestie dotyczące testu

- N. Nie wymieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych pochodzących z zestawów o różnych numerach partii głównej. Można wymieniać kontrole i płyny stosowane w czasie testu.
- O. Unikać kontaminacji odczynników przez drobnoustroje i nukleazy.
- P. Wszystkie odczynniki analityczne należy przechowywać zamknięte i w określonych temperaturach. W przypadku użycia odczynników analitycznych przechowywanych w niewłaściwych warunkach skuteczność testu może ulec zmianie. Zobacz *Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi* oraz *Procedura testu w Panther System*, aby uzyskać więcej informacji.
- Q. Nie łączyć odczynników analitycznych ani płynów bez konkretnej instrukcji. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami. Aparat Panther System weryfikuje poziom odczynników.
- R. Niektóre odczynniki w tym zestawie są oznakowane symbolami zagrożenia i bezpieczeństwa.

**Uwaga:** Stosowane informacje dotyczące zagrożeń są określone przez klasyfikacje kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheets, SDS) obowiązujące w UE. Informacje dotyczące zagrożeń występujących w konkretnym regionie opisano w kartach SDS właściwych dla regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem [www.hologic.com](http://www.hologic.com). Aby uzyskać dodatkowe informacje dotyczące symboli, należy zapoznać się z legendą symboli po adresie <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
—	<p><b>Odczynnik enzymatyczny</b> <b>HEPES 1–5%</b></p> <p>H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska P280 – Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy</p>
—	<p><b>Odczynnik promotora</b> <b>CHLOREK MAGNEZU 60–65%</b></p> <p>H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 – Unikać uwolnienia do środowiska P280 – Stosować ochronę oczu / ochronę twarzy</p>
—	<p><b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych</b> <b>HEPES 5–10%</b> <b>EDTA 1–5%</b> <b>WODOROTLENEK LITU, MONOHYDRAT 1–5%</b></p> <p>H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 – Unikać uwolnienia do środowiska P280 – Stosować ochronę oczu / ochronę twarzy</p>
—	<p><b>Odczynnik amplifikacji</b> <b>CHLOREK MAGNEZU 60–65%</b></p> <p>H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 – Unikać uwolnienia do środowiska P280 – Stosować ochronę oczu / ochronę twarzy</p>


## Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

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 amplifikacji	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynników amplifikacji	15°C do 30°C	2°C do 8°C	30 dni <sup>1</sup>
Odczynnik enzymatyczny	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych	15°C do 30°C	2°C do 8°C	30 dni <sup>1</sup>
Odczynnik promotora	2°C do 8°C		
Roztwór przygotowania odczynnika promotora	15°C do 30°C	2°C do 8°C	30 dni <sup>1</sup>
Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych	15°C do 30°C	15°C do 30°C <sup>2</sup>	30 dni <sup>1</sup>
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

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

<sup>2</sup> Warunki przechowywania dla odczynnika wTCR (odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych z dodaną kontrolą wewnętrzną).

- B. Wyrzucić pozostałości odczynników po przygotowaniu, których nie wykorzystano, oraz roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych (wTCR) po 30 dniach lub po upływie daty ważności partii 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 zanieczyszczenia krzyżowego. Przed przechowywaniem za każdym razem nałożyć nowe zakrętki na wszystkie odczynniki po przygotowaniu.
- F. **Nie zamrażać odczynników.**

## Pobieranie i przechowywanie próbek

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

**Uwaga:** Należy dopilnować, aby w czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Należy na przykład wyrzucać zużyty materiał bez przemieszczania go nad otwartymi próbkami.

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 VTМ.

Próbki ze zmian można zbierać, stosując:

- Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest (na podłoże STM)
- Dostępny na rynku zestaw do pobierania typu VTM (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 i Remel M5)

#### A. Instrukcja pobierania

Instrukcja pobierania znajduje się na ulotce załączonej do opakowania właściwego zestawu do pobierania (Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit w przypadku próbek pobieranych na STM lub Zestaw do transportu próbek Aptima Specimen Transfer Kit w przypadku próbek pobieranych na VTM).

#### B. Transport i przechowywanie próbek przed testem

1. Wymazy pobrane za pomocą zestawu do pobierania wymazów Aptima Multitest Specimen Collection Kit
  - 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 próbki pobrane na 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 bezpydrowe.
    - 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 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 identyfikatorem próbki.
  - d. Procedura przenoszenia próbek
    - i. Aby zmniejszyć ryzyko skażenia innych próbek, pracować jednocześnie z jedną próbką VTM.
    - ii. Nałożyć czyste rękawiczki bezpydrowe i umieścić próbki przeznaczone do badania w obszarze do przenoszenia próbek.
    - iii. Wziąć jedną próbkę VTM. Zdjąć zakrętkę odpowiedniej probówki do przenoszenia próbek Aptima, umieszczając zakrętkę z gwintem skierowanym do góry na stole.
    - iv. Wytrząsać próbkę VTM przez 3 do 10 sekund. Odkręcić zakrętkę 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 Specimen Transfer Kit, zawierającej 2,9 ml STM.
- vi. Wyrzucić końcówkę do pojemnika zawierającego 0,5% roztwór podchlorynu sodu.
- vii. Mocno dokręcić zakrętkę probówki do przenoszenia próbek Aptima. Delikatnie odwrócić probówkę od 2 do 3 razy, aby zagwarantować dokładne wymieszanie się próbki.
- viii. Zamknąć probówkę nakrętką, a resztę próbki VTM przechowywać w temperaturze  $\leq -70^{\circ}\text{C}$ , jeżeli będzie jeszcze potrzebna.
- ix. Przenosząc kolejne próbki, powtarzać etapy od iii do viii. 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  $2^{\circ}\text{C}$  do  $30^{\circ}\text{C}$  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 wykonaniu testu

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 zakrętkę i nałożyć nową nieprzepuszczalną zakrętkę na wszystkie probówki transportowe na próbki. Jeżeli konieczne jest wysłanie próbek do badania do innej placówki, należy zawsze przestrzegać zalecanych temperatur.
4. Przed odkręceniem zakrętek z wcześniej badanych próbek, na które nałożono nowe zakrętki, 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 zanieczyszczenia krzyżowego.**

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



## Panther System

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

### Dostarczone odczynniki i materiały

#### Zestaw testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2

100 testów (2 pudełka do testów i 1 zestaw kontroli), nr 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	<b>Odczynnik amplifikacji</b> <i>Liofilizowane, niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym.</i>	1 fiolka
E	<b>Odczynnik enzymatyczny</b> <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES.</i>	1 fiolka
PRO	<b>Odczynnik promotora</b> <i>Liofilizowane, niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym.</i>	1 fiolka
IC	<b>Kontrola wewnętrzna</b> <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym.</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	<b>Roztwór do przygotowania odczynników amplifikacji</b> <i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>	1 x 7,2 ml
ER	<b>Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych</b> <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	<b>Roztwór przygotowania odczynnika promotora</b> <i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych</b> <i>Kwasy nukleinowe w buforze, z fazą stałą oraz niezakaźne kwasy nukleinowe.</i>	1 x 26,0 ml
	<b>Kołnierze do przygotowania odczynników</b>	3
	<b>Karta z kodami kreskowymi partii głównych</b>	1 karta

**Zestaw kontroli testu Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 assay (nr PRD-03569)  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)**

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

### Materiały wymagane, ale dostępne osobno

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

Materiał	Nr Kat.
Panther System	303095
Zestaw Panther Run Kit for Real Time Assays do testów w czasie rzeczywistym (tylko do testów w czasie rzeczywistym)	PRD-03455 (5000 testów)
Zestaw płynów do testu Aptima (znany także jako zestaw uniwersalnych płynów) zawiera roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima	303014 (1000 testów)
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther	902731
Oslona pojemnika na odpady Panther	504405
Lub zestaw Panther Run <i>(w przypadku wykonywania testów TMA nie w czasie rzeczywistym równoległe z testami TMA w czasie rzeczywistym)</i> Zawiera MTU, torby na odpady, osłonę worka na odpady, płyny do autodetekcji i testu	303096 (5000 testów)
Zestaw płynów do testu Aptima <i>(zawiera roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima)</i>	303014 (1000 testów)
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Końcówki, 1000 µl, z filtrami, przewodzące, z detekcją cieczy, materiał jednorazowego użytku <i>Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. Aby uzyskać szczegółowe informacje, należy skontaktować się z przedstawicielem regionalnym</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Zestaw do transportu próbek Aptima <i>do stosowania z próbkami pobranymi na VTM</i>	301154C
Zestaw do transportu próbek Aptima – drukowalny <i>do stosowania z próbkami pobranymi na VTM</i>	PRD-05110
Końcówki P1000	—
Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest	PRD-03546
Roztwór podchlorynu sodu (wybielacz w stężeniu od 5,0% do 8,25% (od 0,7 M do 1,16 M))	—

Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe	—
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Pokrywki zamienne na odczynniki	—
<i>Roztwory do przygotowania odczynników do amplifikacji, enzymatycznego i promotora CL0041 (100 zakrętek)</i>	
TCR	501604 (100 zakrętek)
Wzmocnione plastikiem osłony stołu laboratoryjnego	—
Ściereczki bezpyłowe	—
Pipetor	—
Końcówki	—
Worteks	—

Materiały opcjonalne	Nr Kat.
Wytrząsarka próbek	—

## Procedura testu w Panther System

**Uwaga:** Dodatkowe informacje o procedurze znajdują się w instrukcji obsługi systemu Panther/ Panther Fusion System.

### A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Oczyszczyć 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 minutę, a następnie należy je spłukać wodą dejonizowaną. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu.
2. Oczyszczyć odrębną powierzchnię roboczą jako miejsce do przygotowania próbek. Postępować zgodnie z procedurą opisaną powyżej (etap A.1).
3. Zakryć powierzchnię stołu, na której będą przygotowywane odczynniki i próbki, czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
4. 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 minutę, a następnie należy je spłukać wodą dejonizowaną. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu.

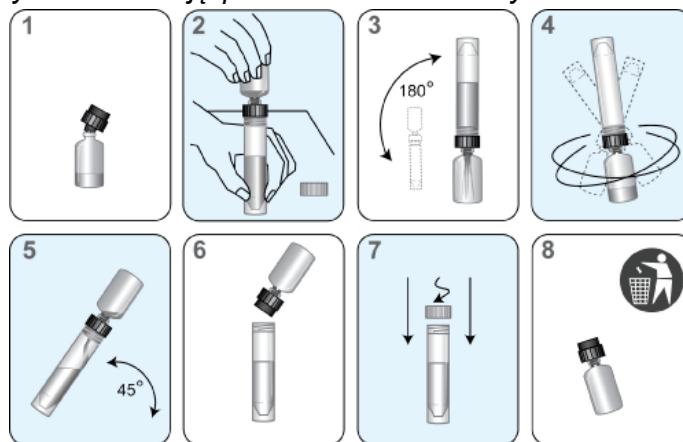
### B. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

**Uwaga:** Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w aparacie Panther System.

1. 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 partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
- d. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór fiolki (Rysunek 1, etap 1).
- e. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania odczynników i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
- f. Trzymając buteleczkę z roztworem do przygotowania odczynników na stole, mocno wcisnąć drugi koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór buteleczki (Rysunek 1, etap 2).
- g. Powoli odwrócić połączone buteleczki. Poczekać, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 1, etap 3).
- h. Delikatnie obrócić buteleczkę z roztworem, aby wymieszać. Nie dopuszczać do utworzenia się piany podczas mieszania zawartości butelki ruchem wirowym (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 do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 1, etap 6).
- k. Nałożyć zakrętkę na plastikową buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 1, etap 7).
- l. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 1, etap 8).

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



**Rysunek 1. Proces przygotowania odczynników**

2. Przygotować odczynnik wTCR
  - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR i IC.
  - b. Sprawdzić numery partii odczynników na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki z zestawu.

- c. Otworzyć buteleczkę TCR i odłożyć zakrętkę 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. Zamknąć butelkę zakrętką 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 zakrętkę.

#### 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).

**Opcja:** Dozwolone jest dodatkowe mieszanie odczynników amplifikacji, enzymatycznych i odczynników-sond przy użyciu wytrząsarki do probówek. Odczynniki można mieszać, umieszczając ponownie zamkniętą plastikową butelkę na wytrząsarce probówek ustawionej na 20 obr./min (lub wartość równoważną) na minimum 25 minut.

2. Jeśli odczynnik wTCR zawiera wytrącony osad, ogrzewać odczynnik wTCR w temperaturze od 42°C do 60°C przez maksymalnie 90 minut. Przed użyciem odczekać, aż temperatura wTCR wróci 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. Ten krok nie jest wymagany, jeśli odczynniki są ładowane do systemu bezpośrednio po wymieszeniu na kołysce.
5. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

**Ostrzeżenie:** Do uzyskania oczekiwanych wyników testu niezbędne jest odpowiednie wymieszanie odczynników.

#### 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 probówka na próbki spełnia następujące kryteria:
  - a. Obecność jednej różowej wymazówki Aptima w probówce do pobierania próbek wymazów Aptima Multitest.
  - b. Brak wymazu w probówce do przenoszenia próbek Aptima w przypadku próbek VTM.
4. Przed włożeniem do statywu sprawdzić probówki na próbki:
  - a. Jeżeli probówka na próbki zawiera pęcherzyki między płynem a zakrętką, wirować probówkę przez 5 minut w 420 RCF w celu wyeliminowania pęcherzyków.
  - b. Jeżeli objętość materiału w probówce na próbki jest mniejsza niż zwykle obserwowana w sytuacji, gdy przestrzegano instrukcji pobierania, wirować probówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że pod zakrętką nie będzie płynu.

**Uwaga:** Pominięcie etapów 4a–4b może spowodować wyciek cieczy spod zakrętki probówki na próbki.

**Uwaga:** Z każdej probówki na próbki można poddać badaniu maksymalnie 4 odrębne porcje. Próby pobrania pipetą więcej niż 4 porcji z probówki na próbki mogą doprowadzić do błędów w czasie pracy.

## E. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z wytycznymi w *Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion* i *Uwagi dotyczące procedury*. Sprawdzić, czy stosowane są statywy na odczynniki o odpowiedniej wielkości oraz adaptery TCR.

**Uwagi dotyczące procedury**

## 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 powiązonym zestawem w okresie do 24 godzin, **o ile nie wystąpiły następujące sytuacje:**
  - a. Wyniki kontroli są nieważne.
  - 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 kontaminację otwartych probówek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

## Kontrola jakości

### A. Kryteria ważności serii

Oprogramowanie automatycznie określa ważność serii. Program unieważni serię, jeżeli wyniki dla co najmniej jednej kontroli (ujemnej i dodatniej) są nieważne.

Operator może unieważnić serię w przypadku zaobserwowania i udokumentowania problemów technicznych, związanych z operatorem lub aparatem w trakcie testu.

Serię nieważną należy powtórzyć.

### B. Prawidłowość kontroli

Tabela 1 wskazuje kryteria prawidłowości TTime dla kontroli ujemnej i dodatniej.

Tabela 1: Kryteria prawidłowości TTime

	IC TTime	HSV-1 TTime	HSV-2 TTime
<b>Kontrola ujemna</b>	$\geq 7,0$ i $\leq 40,0$	-	-
<b>Kontrola dodatnia</b>	$\geq 7,0$ 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 wykrywania HSV-1 i HSV-2 są przedstawiane odrębnie. Tabela 2 ukazuje możliwe wyniki, zgłaszane w przypadku prawidłowej serii oraz interpretacje wyników. Próbki z nieważnymi 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
Nieważne	Nieważne	Nieważne: Wystąpił błąd w czasie tworzenia wyniku. Trzeba ponownie przetestować próbki.

Tabela 3 przedstawia kryteria TTime do określania wyniku dla konkretnej próbki. Test może być także nieważny, 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	- albo $\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	-	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$
HSV1 ujemny	- albo $\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	-	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$
HSV2 dodatni	- albo $\geq 7,0$ i $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ i $\leq 53,0$
Nieważne	-	-	-

**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 przetwarzania.
- C. Test nie jest przeznaczony do stosowania z próbkami płynu mózgowo-rdzeniowego ani do prenatalnych badań przesiewowych.
- D. Wyniki testów Aptima HSV 1 & 2 powinny być interpretowane w połączeniu z innymi danymi klinicznymi dostępnymi dla lekarza klinicysty.
- E. Wynik ujemny testu Aptima HSV 1 i 2 nie wyklucza możliwości wystąpienia infekcji, ponieważ wynik testu jest uzależniony od prawidłowego pobrania próbki. Na wyniki testu może mieć wpływ niewłaściwe pobranie próbki, błąd techniczny, etap kliniczny pobranej zmiany lub poziom szukanych cząsteczek poniżej granicy wykrywalności testu.

## 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 interferencji różnych typów VTM, panele HSV-ujemne (bez dodanego wirusa) także rozcieńczono w STM i badano przy 40 replikatach 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 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 replikatów 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 wykrywalności (LoD) jest stężenie, przy którym uzyskuje się  $\geq 95\%$  wyników dodatnich dla badanych powtórzeń na podstawie najwyższego obliczenia dla trzech serii odczynników.

Tabela 4: Granica wykrywalności (LoD) dla HSV 1 i 2 w VTM i STM

Typ/Szczep HSV	Typ próbki	LoD
		TCID50/mL (Ufność 95%)
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 granicy wykrywalności (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 z zastosowaniem 60 replikatów 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 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% wykrywanie dla HSV-1 i HSV-2.

## Reaktywność krzyżowa

W celu oceny czułości analitycznej i swoistości testu Aptima HSV 1 & 2 w obecności innych drobnoustrojów, które mogą być obecne w próbkach klinicznych, przygotowano panele innych drobnoustrojów w STM w badanym stężeniu  $1 \times 10^5$  jednostek/ml dla wirusów i  $1 \times 10^6$  jednostek/ml w przypadku pozostałych drobnoustrojów. Drobnoustroje badano przy braku HSV albo w obecności HSV-1 lub HSV-2 przy 3X LoD. Stwierdzono, że 47 z 48 badanych drobnoustrojów nie miało wpływu na charakterystykę działania testu przy stężeniu  $1 \times 10^6$  jednostek/ml; a *Streptococcus pneumoniae* nie powodował interferencji przy stężeniu  $1 \times 10^5$  jednostek/ml (Tabela 5).

Tabela 5: Swoistość analityczna

Mikroorganizm	Stężenie
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Actinomyces israelii</i>	$1 \times 10^6$ kopii RNA/ml <sup>2</sup>
Adenowirus typu 1	$1 \times 10^5$ TCID50/ml <sup>3</sup>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1</sup>
<i>Atopobium vaginae</i>	$1 \times 10^6$ kopii RNA/ml <sup>2</sup>
<i>Bacteroides fragilis</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
Wirus BK	$1 \times 10^5$ kopii DNA/ml <sup>3</sup>
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Bordetella pertussis</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Campylobacter jejuni</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Candida glabrata</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Clostridium difficile</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Clostridium perfringens</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Enterobacter cloacae</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Enterococcus faecium</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Enterococcus faecalis</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
Wirus Epsteina-Barr	$1 \times 10^5$ kopii DNA/ml <sup>3</sup>
<i>Escherichia coli</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	$1 \times 10^6$ j.t.k./ml <sup>1,2</sup>

Tabela 5: Swoistość analityczna (ciąg dalszy)

Mikroorganizm	Stężenie
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
Wirus zapalenia wątroby typu B	1 x 10 <sup>5</sup> j.m./ml <sup>4,3</sup>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Mycoplasma hominis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> kopii RNA/ml <sup>2</sup>
<i>Mycoplasma orale</i>	1 x 10 <sup>6</sup> kopii RNA/ml <sup>2</sup>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
Parwowirus B19	1 x 10 <sup>5</sup> TCID50/ml <sup>3</sup>
<i>Prevotella bivia</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Streptococcus mitis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100 000 j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 <sup>6</sup> j.t.k./ml <sup>1,2</sup>
Wirus ospy wietrznej-półpaśca	1 x 10 <sup>5</sup> kopii DNA/ml <sup>3</sup>
Wirus Zachodniego Nilu	1 x 10 <sup>5</sup> TCID50/ml <sup>3</sup>

<sup>1</sup>j.t.k. = jednostki tworzące kolonie.

<sup>2</sup>Pozyskane wewnątrznie od firmy Hologic, Inc.

<sup>3</sup>Uzyskane od firmy ZeptoMetrix Corporation (Buffalo, stan Nowy Jork).

<sup>4</sup>j.m. = jednostki międzynarodowe.

## Interferencja

Potencjalne substancje powodujące interferencje wymienione w Tabeli 6 badano testem Aptima HSV 1 & 2 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 10<sup>5</sup> komórek/ml w przypadku leukocytów. Panele przygotowano w 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 interferencji przy stężeniu 4% W/V lub 80% SC. Nie zaobserwowano interferencji 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 interferencji dla następujących substancji endogennych w następujących końcowych stężeniach: leukocyty ( $4 \times 10^5$  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/antykonceptyjny	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	Dezodorant dla kobiet FDS	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	$4 \times 10^5$ 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
Pasta 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.

## Powtarzalność

Powtarzalność testu Aptima HSV 1 & 2 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 TCID<sub>50</sub>/ml do 86,96 TCID<sub>50</sub>/ml, a końcowe stężenia HSV-2 mieściły się w zakresie od 0 TCID<sub>50</sub>/ml do 1,63 TCID<sub>50</sub>/ml.

Wiarygodność testu Aptima HSV 1 & 2 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.

Tabela 7 pokazuje zgodność wyników testu Aptima HSV 1 & 2 z oczekiwanymi wynikami dla wszystkich próbek panelu.

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

Stęż.		Stężenie docelowe (TCID <sub>50</sub> /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
Ujem.	Ujem.	0	0	Ujem.	Ujem.	108	108	108	100 (96,6–100)	100 (96,6–100)
NDod.	Ujem.	28,90	0	Dod.	Ujem.	108	103	108	95,4 (89,6–98,0)	100 (96,6–100)
Ujem.	NDod.	0	0,54	Ujem.	Dod.	108	108	105	100 (96,6–100)	97,2 (92,1–99,1)
NDod.	ŚDod.	28,90	1,63	Dod.	Dod.	108	97	108	89,8 (82,7–94,2)	100 (96,6–100)
ŚDod.	NDod.	86,96	0,54	Dod.	Dod.	108	108	108	100 (96,6–100)	100 (96,6–100)
WUjem.	Ujem.	3,00	0	Dod.	Ujem.	108	50	108	46,3 (37,2–55,7)	100 (96,6–100)
Ujem.	WUjem.	0	0,20	Ujem.	Dod.	108	108	86	100 (96,6–100)	79,6 (71,1–86,1)

CI = przedział ufności wyniku, Stęż. = stężenie, WUjem. = wysokie ujemne, NDod. = niskie dodatnie, ŚDod = umiarkowanie dodatnie, Ujem. = ujemne, Dod. = dodatnie.

Tabela 8 pokazuje zmienność sygnału HSV-1 i HSV-2 w próbkach panelu o niskim i umiarkowanie dodatnim stężeniu między ośrodkami, między operatorami, między partiami, między dniami, między seriami, w obrębie serii oraz ogółem dla próbek panelu z dodatnimi wynikami testu Aptima HSV 1 & 2.

Tabela 8: Zmienność sygnału testu Aptima HSV 1 &amp; 2 w próbkach panelu ze stężeniem niskim i umiarkowanie dodatnim

Wirus	Stęż.	N	Średnia TTime	Między	Między	Między	Między	Między	Wewnątrz	Razem
				ośrodkami	operatorami	partiami	dniami	seriami	serii	
				SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
				(%CV)	(%CV)	(%CV)	(%CV)	(%CV)	(%CV)	(%CV)
HSV-1	NDod.	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)
	NDod.	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)
	ŚDod.	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	NDod.	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)
	NDod.	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)
	ŚDod.	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)

Stęż. = stężenie, CV = współczynnik zmienności, NDod. = niski dodatni, ŚDod. = 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.

### Przygotowane próbki z jamy ustnej HSV-2

Test Aptima HSV 1 & 2 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. 15 powtórzeń próbek HSV-ujemnych, 25 powtórzeń HSV-2 przy 3X LoD i 25 powtórzeń HSV-2 przy 1000X LoD dla obu matryc VTM i STM analizowali operatorzy, którzy nie znali składu panelu. Wyniki wykazały 100% wykrywanie dla przygotowanych paneli zawierających HSV-2-dodatnie próbki z jamy ustnej oraz 0% wykrywanie wszystkich próbek ujemnych w matrycach klinicznych STM i VTM.

## Charakterystyka kliniczna działania aparatu Panther System

### 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 odbytu<sup>1</sup> albo jamy ustnej,<sup>2</sup> 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 próbek Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit. Próbkę poddawano obróbce zgodnie z odpowiednią ulotką załączoną do opakowania i badano systemem do hodowli w kierunku wirusów i typowania ELVIS HSV ID and D<sup>3</sup> Typing Test oraz poddaną walidacji dwukierunkową procedurą 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 D<sup>3</sup> 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 D<sup>3</sup> Typing Test był ujemny (albo dodatni dla drugiego typu HSV<sup>3</sup>). 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 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 wykonano w 3 laboratoriach zewnętrznych. Przeprowadzono 108 prób testu Aptima HSV 1 & 2: 107 (99,1%) serii było ważnych i 1 seria (0,9%) nie była nieważna ze względu na błąd sprzętu. Przebadano 1629 próbek w ważnych próbach testu Aptima HSV 1 & 2: dla 1628 (99,9%) uzyskano ważne wyniki końcowe, a dla 1 (0,1%) wynik końcowy był nieważny ze względu na błąd sprzętu (tej próbki nie badano ponownie ze względu na niewystarczającą objętość). Dla 7 próbek (0,4%) wyniki początkowe były nieważne, ale 6 z nich przebadano ponownie i wyniki były ważne.

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% (Tabela 9 i Tabela 10).

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

1 Obejmuje jamę brzuszną, odbytu, pośladki, szyjkę macicy, napletek, żołądź, pachwiny, wznórek 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 D<sup>3</sup> Typing Test nie wykrywa próbek z zakażeniami współistniejącymi. Pod kątem HSV-1 mogą być typowane jedynie próbki HSV-2-ujemne.



Tabela 9: Charakterystyka kliniczna działania testu Aptima HSV 1 & 2 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	Cz. wyst. (%)	% czułość (95% CI) <sup>3</sup>	% swoistość (95% CI) <sup>3</sup>	% PPV (95% CI) <sup>4</sup>	% NPV (95% CI) <sup>4</sup>
VTM	Okolica narządów płciowych i odbytu	528	71	1	451	5 <sup>1</sup>	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)
	Okolica 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)
	Okolica 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	Okolica narządów płciowych i odbytu	531	71	2	454	4 <sup>2</sup>	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)
	Okolica 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)
	Okolica 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. = prewalencja, VTM = próbka VTM.

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

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

<sup>3</sup>CI dla wyniku.

<sup>4</sup>95% 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.

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

Tabela 10: Charakterystyka kliniczna działania testu Aptima HSV 1 & 2 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	Cz. wyst. (%)	% czułość (95% CI) <sup>3</sup>	% swoistość (95% CI) <sup>3</sup>	% PPV (95% CI) <sup>4</sup>	% NPV (95% CI) <sup>4</sup>
VTM	Okolica narządów płciowych i odbytu	533	248	7	270	8 <sup>1</sup>	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 <sup>2</sup>	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.

<sup>1</sup>Dla wszystkich ośmiu próbek stwierdzono ujemne wyniki hodowli.

<sup>2</sup>Dla wszystkich czterech próbek stwierdzono ujemne wyniki hodowli.

<sup>3</sup>CI dla wyniku.

<sup>4</sup>95% 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.

Tabela 11 ukazuje czułość, swoistość, PPV i NPV testu Aptima HSV 1 & 2 do wykrywania HSV-1 oraz prewalencję HSV-1 (na podstawie złożonej metody referencyjnej) w zmianach w jamie ustnej dla każdego typu próbki. Czuość 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. Swoistość wykrywania HSV-1 wyniosła 88,7% w przypadku 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.

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

Typ próbki	N	TP	FP	TN	FN	Cz. wyst. (%)	% czułość (95% CI) <sup>3</sup>	% swoistość (95% CI) <sup>3</sup>	% PPV (95% CI) <sup>4</sup>	% NPV (95% CI) <sup>4</sup>
VTM	241	97	1	121	22 <sup>1</sup>	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 <sup>2</sup>	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.

<sup>1</sup>Dla dziewiętnastu próbek stwierdzono ujemne wyniki hodowli, a dla jednej dodatni wynik hodowli bez możliwości określenia typu HSV.

<sup>2</sup>Dla wszystkich trzech próbek stwierdzono ujemne wyniki hodowli.

<sup>3</sup>CI dla wyniku.

<sup>4</sup>95% 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 wywołana 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. Czuość 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, czuość analityczna wykrywania HSV-2 na podstawie przygotowanych próbek z jamy ustnej wyniosła 100%. Swoistość wykrywania HSV-2 wyniosła 100% w przypadku wymazów Aptima Multitest i 100% dla próbek VTM.

Tabela 12 przedstawia czułość, swoistość, PPV i NPV testu Aptima HSV 1 & 2 do wykrywania HSV-2 oraz prewalencję HSV-2 (na podstawie złożonej metody referencyjnej) w zmianach w okolicy jamy ustnej dla każdego typu próbki.

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

Typ próbki	N	TP	FP	TN	FN	Cz. wyst. (%)	% czułość (95% CI) <sup>2</sup>	% swoistość (95% CI) <sup>2</sup>	% PPV (95% CI) <sup>3</sup>	% NPV (95% CI) <sup>3</sup>
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 <sup>1</sup>	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.

<sup>1</sup>Dla tej próbki stwierdzono ujemny wynik hodowli.

<sup>2</sup>CI dla wyniku.

<sup>3</sup>95% 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.

## 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 13 przedstawiono prewalencję HSV-1 i HSV-2 w zależności od typu próbki i grupy wiekowej na podstawie testu Aptima HSV 1 & 2 w badaniu dotyczącym klinicznej charakterystyki działania.

Tabela 13: Wynik dodatni w teście Aptima HSV 1 & 2 w odniesieniu do kategorii lokalizacji zmiany i grupy wiekowej<sup>1</sup>

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
<b>Wszystkie lokalizacje zmian</b>				
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)
<b>Zmiany w okolicy narządów płciowych i odbytu</b>				
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)
<b>Zmiany w jamie ustnej</b>				
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)

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

**Dodatnie i ujemne wartości predykcyjne dla hipotetycznych wskaźników prevalencji**

W Tabeli 14 przedstawiono szacowane dodatnie i ujemne wartości predykcyjne (PPV i NPV) dla testu Aptima HSV 1 & 2 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 14: 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	Prevalencja (%)	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

W Tabeli 15 przedstawiono rozkład wartości TTime dla kontroli dodatniej w teście Aptima HSV 1 & 2 ze wszystkich ważnych prób testu Aptima HSV 1 & 2 przeprowadzonych w czasie badania dotyczącego klinicznej charakterystyki działania.

Tabela 15: Rozkład TTime dla testu Aptima HSV 1 & 2

Kontrole dodatnie

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, 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; wersja bieżąca.
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.

## Informacje kontaktowe i historia wersji



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



Adres sponsora w Australii:  
Hologic (Australia i Nowa Zelandia) Pty Ltd  
Macquarie Park NSW 2113



Adres e-mail i numer telefonu działu pomocy technicznej i obsługi klienta właściwe dla danego kraju można znaleźć na stronie [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Poważne zdarzenia, które miały miejsce w związku z wyrobem w Unii Europejskiej należy zgłaszać do producenta oraz właściwego urzędu państwa członkowskiego, w którym ma siedzibę użytkownik/mieszka pacjent.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion i powiązane logo są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic 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 w Stanach Zjednoczonych spośród wymienionych na stronie [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

©2016-2022 Hologic, Inc. Wszystkie prawa zastrzeżone.

AW-23071-3401 Wer. 001  
2022-10

Historia wersji	Data	Opis
AW-23071 Wer. 001	Październik 2022 r.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Utworzony dokument APTIMA HSV 1 &amp; 2 assay IFU AW-23071 wer. 001 zastąpi dokument AW-15346 wer. 005. Aby zapewnić zgodność z IVDR (poza Stanami Zjednoczonymi i w Stanach Zjednoczonych), dane są bardziej szczegółowe i przygotowano nowe PI, aby spełnić wymagania IVDR</li> <li>• Dodano: Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej</li> <li>• Zaktualizowano sekcję Ostrzeżenia i środki ostrożności</li> <li>• Zaktualizowano sekcję Materiały wymagane, ale dostępne osobno</li> <li>• Zaktualizowano sekcję dotyczącą systemu Panther w rozdziale Procedura testu w Panther System</li> <li>• Usunięto wcześniejsze tabele od 13 do 18 i odpowiednio zmieniono numerację</li> <li>• Zaktualizowano informacje kontaktowe, w tym: przedstawiciela WE, znak CE, informacje o przedstawicielu w Australii i pomocy technicznej</li> <li>• Pomniejsze aktualizacje stylistyczne i formatowania</li> </ul>