

Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

Gebrauchsanweisung
Zur *in-vitro*-diagnostischen Anwendung
Nur für den US-Export

Allgemeine Informationen	2
Verwendungszweck	2
Zusammenfassung und Testerklärung	2
Verfahrensprinzipien	3
Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung	3
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	4
Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien	6
Probenentnahme und -lagerung	6
Panther System	9
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien	9
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	10
Testverfahren mit dem Panther System	11
Verfahrenshinweise	14
Qualitätskontrolle	15
Testauswertung	16
Einschränkungen	17
Analytische Assay-Leistung des Panther Systems	18
Virustransportmedien (Viral Transport Media, VTM)	18
Analytische Sensitivität	18
Überprüfung der Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD)	18
Koinfektion	19
Kreuzreaktivität	19
Interferenz	20
Reproduzierbarkeit	22
HSV-2 Oral künstlich hergestellt	23
Klinische Assay-Leistung des Panther Systems	24
Klinische Leistungsdaten	24
Referenzbereich und erwartete Werte	27
Literatur	31
Kontaktinformationen und Änderungsprotokoll	32

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (Aptima HSV 1 & 2 Assay) ist ein *In-vitro*-Echtzeit-Nukleinsäure-Amplifikationstest (NAAT) für den qualitativen Nachweis und die Unterscheidung von Messenger-RNA (mRNA) des Herpes simplex Virus (HSV) Typ 1 (HSV-1) und Typ 2 (HSV-2) auf dem Panther™ System.

Der Assay kann zum Testen von Abstrichproben verwendet werden, die vom Kliniker von Hautläsionen im anogenitalen oder oralen Bereich entnommen und in Transportmedium für Viren (VTM) oder Aptima Probentransportmedium (STM) gegeben werden. Der Assay wird als Hilfestellung bei der Diagnose von HSV-1 und/oder HSV-2 Infektionen bei symptomatischen männlichen und weiblichen Patienten eingesetzt.

Das Produkt ist nicht für Verwendung mit Liquor oder für pränatales Screening vorgesehen.

Zusammenfassung und Testerkklärung

Herpes-Simplex-Viren Typ 1 und 2 (HSV-1 und HSV-2) sind doppelsträngige DNA-Viren und gehören zur Unterfamilie der Alpha-Herpesviridae. Obwohl HSV-1 und HSV-2 nah miteinander verwandt sind, unterscheiden sie sich hinsichtlich der Genetik und der Serologie (1). In den USA lag in den Jahren von 2005 - 2010 die Seroprävalenz von HSV-1 bei 53,9 % und von HSV-2 bei 15,7 % (2).

HSV-1 und HSV-2 infizieren normalerweise geschädigte Haut bzw. Mund- oder Genitalschleimhaut und verursachen schmerzhafte Läsionen. Nach einer symptomatischen Anfangsphase verursachen die Viren latente Infektionen an sensorischen Nervenganglien, die bei Menschen unheilbare lebenslängliche Infektionen zur Folge haben. Viele Ereignisse wie physischer und emotionaler Stress, Fieber, ultraviolettes Licht und Gewebeschädigung können zur Reaktivierung der Viren und somit zu wiederkehrenden Läsionen oder asymptomatischer Freisetzung führen (1,3).

Obwohl sowohl HSV-1 und HSV-2 die Mund- und Genitalschleimhaut infizieren können, ist HSV-1 für eine Vielzahl an Infektionen, die nicht den Genitalbereich betreffen, verantwortlich. Die HSV-Infektionen des Genitalbereichs sind die am weitesten verbreiteten sexuell übertragbaren Infektionen in den Vereinigten Staaten. Während HSV-2 immer noch die häufigste Ursache von Genital-Herpes ist, weisen neuere Studien auf eine Zunahme der Inzidenz von HSV-1 verursachtem Genital-Herpes hin (4). HSV-Infektionen im Genitalbereich können den Erwerb und die Übertragung von HIV begünstigen (5). Darüber hinaus besteht bei schwangeren Frauen mit HSV-Primärinfektion im Genitalbereich spät in der Schwangerschaft eine 50 % Chance, dass das Virus auf den Fötus übertragen wird und es besteht ein höheres Risiko für einen Spontanabort und eine Frühgeburt (6).

Ein hoher Prozentsatz der asymptomatischen HSV-Infektionen bleibt vom Patienten oder Arzt unerkannt (7). Die genaue Diagnose von HSV-Infektionen verbessert die Beratung, führt zu einer wirksamen Behandlung und reduziert die Übertragung (4).

In der Vergangenheit wurden HSV-Infektionen mithilfe von Viruskulturen gefolgt von HSV-Typisierung mit Immunfluoreszenz diagnostiziert. Dies sind zeit- und arbeitsintensive Verfahren. Nukleinsäure-Amplifikationstests (NAATs) haben sich im Vergleich zu Kulturmethoden als sensitiver erwiesen und bieten eine viel kürzere Analysedauer („time-to-result“) (4).

Der Aptima HSV 1 & 2 Assay ist ein NAAT, der für den Einsatz auf dem automatisierten Panther System entwickelt wurde, das Target Capture, transkriptionsvermittelte Amplifikation (TMA™) sowie den Echtzeit-Nachweis von HSV-1 und HSV-2 und eine interne Kontrolle (IC) verwendet. Der Aptima HSV 1 & 2 Assay amplifiziert und detektiert mRNA für HSV-1 und HSV-2 (8). Diese RNAs werden während des Infektionszyklus von dem viralen Genom exprimiert und vor der Virenfreisetzung aus infizierten Zellen in HSV-1 und HSV-2 Viruspartikeln verpackt (9). Der Aptima HSV 1 & 2 Assay erkennt daher sowohl Virus-infizierte Zellen als auch die reifen Viruspartikel selbst.

Verfahrensprinzipien

Der Aptima HSV 1 & 2 Assay umfasst drei Hauptschritte, die alle in einem einzigen Röhrchen auf dem Panther System stattfinden: Target Capture, Target-Amplifikation durch TMA und Detektion der Amplifikationsprodukte (Amplikons) mithilfe von fluoreszenzmarkierten Sonden (Torches). Der Assay beinhaltet eine IC in jedem Test, um das Target-Nukleinsäure-Capture, die Amplifikation und die Detektion zu überprüfen.

Die Proben werden in ein Röhrchen mit STM, das die Zellen lysiert, die mRNA freisetzt und sie vor Abbau während der Lagerung schützt, entnommen bzw. in ein solches Röhrchen transferiert. Bei der Durchführung des Aptima HSV 1 & 2 Assays wird die Target-mRNA durch Verwendung von Fänger-Oligomeren, die an magnetische Mikropartikel gebunden sind, von der Probe isoliert. Die Fänger-Oligomere enthalten Sequenzen, die zu spezifischen Bereichen der HSV mRNA-Targetmoleküle komplementär sind, sowie Desoxyadenosinreste. Während des Hybridisierungsschritts binden sich die sequenzspezifischen Regionen der Fänger-Oligomere an spezifische Regionen des HSV mRNA-Targetmoleküls. Das Capture des Fänger-Oligomer/Target-Komplexes aus der Lösung erfolgt dann durch Verminderung der Reaktionstemperatur auf Raumtemperatur. Diese Temperatursenkung ermöglicht das Auftreten einer Hybridisierung zwischen dem Desoxyadenosinbereich auf dem Fänger-Oligomer und den Polydesoxythymidin-Molekülen, die kovalent an die Magnetpartikel gebunden sind. Diese Mikropartikel, einschließlich der an sie gebundenen HSV mRNA-Targetmoleküle, werden mithilfe von Magneten an die Wand des Reaktionsröhrchens gezogen und der Überstand wird aspiriert. Die Partikel werden gewaschen, um Reste der Probenmatrix zu entfernen, die Amplifikationshemmer enthalten kann.

Nach Abschluss des Target Capture wird die HSV mRNA mittels TMA amplifiziert. TMA ist ein transkriptionsbasiertes Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren, das zwei Enzyme, MMLV reverse Transkriptase und T7-RNA-Polymerase, verwendet. Die reverse Transkriptase wird zur Erzeugung einer DNA-Kopie der Target-mRNA-Sequenz, die eine Promotersequenz für T7-RNA-Polymerase enthält, verwendet. T7-RNA-Polymerase produziert mehrere Kopien des RNA-Amplikons vom Template der DNA-Kopie.

Die Detektion wird erreicht, indem einzelsträngige Nukleinsäure-Sonden (Torches) verwendet werden, die während der Amplifikation des Targets vorhanden sind und spezifisch sowie in Echtzeit an das Amplikon hybridisieren. Jede Sonde hat ein Fluorophor und einen Quencher. Der Quencher unterdrückt die Fluoreszenz des Fluorophors, da er so designt wurde, dass er sich in unmittelbarer Nähe befindet, wenn er nicht an das Amplikon hybridisiert. Bindet die Sonde jedoch an das Amplikon, ist der Abstand zwischen Quencher und Fluorophor größer, sodass dieses bei Anregung mit einer Lichtquelle ein Signal mit einer bestimmten Wellenlänge abgibt. Weitere Sonden hybridisieren, wenn mehr Amplikons vorhanden sind. Die Zunahme des Fluoreszenzsignals bei fortlaufender Amplifikation wird mittels Fluorometer im Panther System detektiert. Das Panther System kann die drei fluoreszierenden Signale, die mit den HSV-1, HSV-2 und IC-Amplifikationsprodukten korrespondieren, nachweisen und zwischen diesen unterscheiden. Die Fluoreszenz (gemessen in relativen Fluoreszenz-Einheiten [RFU]) wird über die Zeit überwacht, um eine Echtzeit-Fluoreszenzentstehungskurve für jeden Reporter-Farbstoff zu erzeugen. Die Panther System Software vergleicht die Fluoreszenzentstehungskurven mit feststehenden Cut-off-Zeiten, um die Ergebnisse (TTime) für HSV-1, HSV-2 und IC auszugeben.

Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung

Die SSP (Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung, Summary of Safety and Performance) ist in der Europäischen Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed) verfügbar und dort mit den Gerätekennungen (Basis UDI-DI) verknüpft. Die SSP für den Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay finden Sie unter der grundlegenden eindeutigen Gerätekennung (Basic Unique Device Identifier, BUDI): **54200455DIAGAPTHSV12S7**.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- A. Zur *In-vitro*-Diagnostik.
- B. Für den professionellen Einsatz.
- C. Zur Verringerung des Risikos ungültiger Ergebnisse müssen die Packungsbeilage und die *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System) vollständig durchgelesen werden, bevor dieser Assay durchgeführt wird.

Laborbezogen

- D. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.
- E. Die normalen Vorsichtsmaßnahmen im Labor ergreifen. Nicht mit dem Mund pipettieren. In ausgewiesenen Arbeitsbereichen nicht essen, trinken oder rauchen. Ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel beim Umgang mit Proben und Kitreagenzien tragen. Nach der Handhabung von Proben und Kitreagenzien die Hände gründlich waschen.
- F. Arbeitsflächen, Pipetten und andere Geräte müssen regelmäßig mit einer 2,5 %-igen bis 3,5 %-igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden.
- G. Material, das in Kontakt mit Patientenproben und Reagenzien gelangt ist, nach allen geltenden Vorschriften entsorgen (10,11,12,13). Alle Arbeitsflächen gründlich reinigen und desinfizieren.

Probenbezogen

- H. Das Verfallsdatum der Kits für den Probentransport bezieht sich auf die Gewinnung/den Transfer der Proben und nicht auf die Probestestung. Die zu irgendeinem Zeitpunkt vor diesen Verfallsdaten gesammelten/transferierten Proben sind selbst nach dem Verfallsdatum auf dem Transferröhrchen gültig für Tests, vorausgesetzt sie wurden gemäß der entsprechenden Packungsbeilage transportiert oder gelagert.
- I. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assays sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen (10, 11, 12) zu befolgen. Entsprechend den vor Ort geltenden Bestimmungen sind angemessene Handhabungs- und Entsorgungsmethoden festzulegen (13). Dieses Verfahren sollte nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima HSV 1 & 2 Assay und in der Handhabung infektiösen Materials entsprechend geschult sind.
- J. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerungsbedingungen aufrechterhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht untersucht.
- K. Kreuzkontamination während der Probenhandhabungsschritte vermeiden. Insbesondere ist darauf zu achten, beim Lösen oder Entfernen von Kappen von Patientenproben eine Kontamination durch Verbreitung von Aerosolen zu vermeiden. Die Proben können sehr hohe Konzentrationen von Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Die Handschuhe wechseln, wenn diese mit Proben in Kontakt kommen.
- L. Nach der Punktion kann unter bestimmten Bedingungen aus dem mit Deckel versehenen Aptima-Transportröhrchen Flüssigkeit austreten. Weitere Informationen sind den entsprechenden *Testverfahren* zu entnehmen.
- M. Wenn das Labor ein Aptima Multitest-Probenröhrchen für Abstriche ohne Tupfer, mit zwei Tupfern oder einem nicht von Hologic gelieferten Tupfer erhält, muss die Probe abgelehnt werden.

Hinweise zum Assay

- N. Assay-Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Chargennummern nicht austauschen, vermischen oder kombinieren. Kontrollen und Flüssigkeiten für den Assay können untereinander ausgetauscht werden.
- O. Eine Kontamination der Reagenzien mit Mikroben oder Nuklease ist zu vermeiden.
- P. Alle Assay-Reagenzien verschließen und bei den angegebenen Temperaturen lagern. Die Assay-Leistung kann durch Verwendung von falsch gelagerten Assay-Reagenzien beeinträchtigt werden. Siehe *Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien* und *Testverfahren mit dem Panther System* für weitere Informationen.
- Q. Assay-Reagenzien oder Flüssigkeiten nur auf ausdrückliche Anweisung miteinander kombinieren. Reagenzien und Flüssigkeiten nicht nachfüllen. Das Panther System überprüft die Reagenzien-Füllstände.
- R. Einige Reagenzien in diesem Kit sind mit Risiko- und Sicherheitssymbolen gekennzeichnet.

Hinweis: Die Gefahrenkommunikation spiegelt die Einstufung der EU Sicherheitsdatenblätter (SDS) wider. Informationen zur Gefahrenkommunikation spezifisch für Ihre Region finden Sie im regionsspezifischen SDB in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung (Safety Data Sheet Library) unter www.hologic.com/sds. Weitere Informationen zu anderen Symbolen finden Sie in der Symbollegende auf <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Gefahreninformationen für Europa	
—	<p>Enzymreagenz HEPES 1 – 5 %</p> <p>H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden P280 - Augen-/Gesichtsschutz tragen.</p>
—	<p>Promotorreagenz MAGNESIUMCHLORID 60–65 %</p> <p>H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden P280 - Augen-/Gesichtsschutz tragen</p>
—	<p>Target Capture-Reagenz HEPES 5 – 10 % EDTA 1 - 5 % LITHIUMHYDROXID, MONOHYDRAT 1-5 %</p> <p>H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden P280 - Augen-/Gesichtsschutz tragen</p>
—	<p>Amplifikationsreagenz MAGNESIUMCHLORID 60–65 %</p> <p>H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden P280 - Augen-/Gesichtsschutz tragen</p>


Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

A. Die folgende Tabelle zeigt die Lagerungsbedingungen und die Stabilität der Reagenzien und Kontrollen.

Reagenz	Lagerung im ungeöffneten Zustand	Offenes Kit (rekonstituiert)	
		Lagerung	Stabilität
Amplifikationsreagenz	2 °C bis 8 °C		
Amplifikationsrekonstitutionslösung	15 °C bis 30 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ¹
Enzymreagenz	2 °C bis 8 °C		
Enzymrekonstitutionslösung	15 °C bis 30 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ¹
Promotorreagenz	2 °C bis 8 °C		
Promotorrekonstitutionslösung	15 °C bis 30 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ¹
Target Capture-Reagenz	15 °C bis 30 °C	15 °C bis 30 °C ²	30 Tage ¹
Negativkontrolle	2 °C bis 8 °C		Fläschchen für den Einmalgebrauch
Positivkontrolle	2 °C bis 8 °C		Fläschchen für den Einmalgebrauch
Interne Kontrolle	2 °C bis 8 °C		Fläschchen für den Einmalgebrauch

¹Wenn Reagenzien aus dem Panther System genommen werden, sind sie sofort wieder bei ihren jeweiligen Lagerungstemperaturen aufzubewahren.

²Lagerbedingung für Target Capture-Arbeitsreagenz (Target Capture-Reagenz mit interner Kontrolle hinzugefügt).

- B. Alle unbenutzten rekonstituierten Reagenzien und das Target Capture-Arbeitsreagenz (working Target Capture Reagent, wTCR) nach 30 Tagen oder nach Ablauf des Verfallsdatums der Hauptcharge (das frühere Datum ist ausschlaggebend) entsorgen.
- C. Im Panther System gelagerte Reagenzien sind im Gerät 120 Stunden stabil.
- D.  Das Promotorreagenz und das rekonstituierte Promotorreagenz sind lichtempfindlich. Diese Reagenzien sind lichtgeschützt zu lagern und für die Anwendung vorzubereiten.
- E. Bei Handhabung und Lagerung der Reagenzien Kreuzkontamination vermeiden. Sämtliche rekonstituierten Reagenzien jedes Mal vor Lagerung mit neuen Reagenzienverschlüssen verschließen.
- F. **Reagenzien nicht einfrieren.**

Probenentnahme und -lagerung

Hinweis: Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös zu handhaben. Es sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen zu treffen.

Hinweis: Bei den Schritten, die eine Handhabung von Proben erfordern, darauf achten, dass es zu keiner Kreuzkontamination kommt. Benutztes Material ist beispielsweise so zu entsorgen, dass es nicht über geöffnete Röhrchen geführt wird.

Vom Arzt entnommene Tupferproben von Läsionen im anogenitalen oder Mundbereich, die in STM oder VTM überführt wurden, können verwendet werden.

Proben von Läsionen können folgendermaßen entnommen werden:

- Aptima Multitest-Probenentnahmekit für Abstriche (für STM)
- Handelsübliches VTM-Entnahmekit (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 und Remel M5)

A. Anweisungen zur Probengewinnung

Spezifische Anweisungen zur Entnahme sind in der Packungsbeilage des jeweiligen Probenentnahmekit zu finden (Aptima Multitest-Probenentnahmekit für Abstriche für in STM entnommene Patientenproben oder Aptima Probentransferkit für in VTM entnommene Patientenproben).

B. Probentransport und -lagerung vor dem Test

1. Tupferproben entnommen mit Aptima Multitest-Probenentnahmekit für Abstriche

- a. Transportieren und lagern Sie die Proben in Aptima Abstrichproben-Transportröhrchen bei 2 °C bis 30 °C für einen Zeitraum von bis zu 60 Tagen nach der Entnahme.
- b. Wenn eine längere Lagerung erforderlich ist, sind die Proben bei ≤ -20 °C bis zu 90 Tagen nach der Entnahme lagern.

2. Abstrichproben entnommen in VTM-Entnahmekit

- a. Transportieren und lagern Sie die Proben in VTM-Röhrchen bei 2 °C bis 8 °C für einen Zeitraum von bis zu 3 Tagen nach der Entnahme.
- b. Vor dem Test mit dem Aptima HSV 1 & 2 Assay müssen in VTM entnommene Proben in das Transferröhrchen aus dem Aptima Probentransferkit übertragen werden, das gemäß den unten angegebenen Anweisungen 2,9 ml STM enthält.
- c. Vorbereitung des Probentransferbereichs
 - i. Ungepuderte Handschuhe anziehen.
 - ii. Die Arbeitsflächen und Pipettierer mit einer 2,5 %-igen bis 3,5 %-igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung abwischen.
 - iii. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens eine 1 Minute auf den Flächen und Pipetten einwirken. Spülen Sie sie anschließend mit deionisiertem Wasser ab. Die Oberflächen mit sauberen Papierhandtüchern abtrocknen.
 - iv. Den Labortisch mit sauberen, saugfähigen Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite abdecken.
 - v. Platzieren Sie im Proben-Transferbereich einen Reagenzglasständer mit einer ausreichenden Anzahl von Aptima Probenröhrchen, die der zu testenden Zahl an VTM-Proben entspricht.
 - vi. Beschriften Sie jedes Aptima Probentransferröhrchen mit Zugangsnummer oder Proben-ID.
- d. Probentransferverfahren
 - i. Zur Reduzierung des Risikos einer Kontaminierung anderer Proben nur mit jeweils einer VTM-Probe arbeiten
 - ii. Saubere ungepuderte Handschuhe anziehen und zu testende Proben in den Proben-Transferbereich stellen.
 - iii. Eine VTM-Probe erhalten. Die Kappe des entsprechenden Aptima Probentransferröhrchens abnehmen und die Kappe mit dem Gewinde nach oben auf den Labortisch legen.
 - iv. Mischen Sie die VTM-Patientenprobe gründlich 3 bis 10 Sekunden auf dem Vortexer. Das Röhrchen öffnen, Kappe auf den Labortisch mit dem Gewinde nach oben legen.
 - v. Eine Minute lang mit dem Vortex-Mischer mischen, 0,5 ml der VTM-Patientenprobe in das Aptima Röhrchen für Patientenprobentransfer aus dem Aptima Probentransferkit pipettieren, das 2,9 ml STM enthält.

- vi. Entsorgen Sie die Pipettenspitze in ein Behältnis mit 0,5 %-iger Natriumhypochloritlösung.
 - vii. Verschließen Sie das Aptima Probenferröhrchen fest. Drehen Sie das Röhrrchen vorsichtig 2 bis 3 Mal um, um die vollständige Vermischung der Probe sicherzustellen.
 - viii. Verschließen Sie das Röhrrchen mit der übrig gebliebenen VTM-Patientenprobe für die Lagerung bei ≤ -70 °C, falls gewünscht.
 - ix. Wiederholen Sie die Schritte iii bis viii für den Transfer der nachfolgenden Proben. Wechseln Sie die ungepuderten Handschuhe häufig und insbesondere, wenn diese mit Proben in Kontakt kommen.
- e. Nach dem Transfer in ein Aptima Probenferröhrchen können Patientenproben bis zu 30 Tage lang bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden.
 - f. Wenn eine längere Lagerung erforderlich ist, die VTM-Patientenprobe in einem Aptima Probenferröhrchen bei -20 °C bis zu 90 Tage einfrieren.

C. Probenlagerung nach dem Test

1. Die bereits getesteten Proben müssen aufrecht in einem Ständer gelagert werden.
2. Die Probentransportgefäße sind mit einem neuen Barrierschutz aus sauberer Kunststoffolie zu verschließen.
3. Wenn getestete Proben gefroren oder versandt werden müssen, entfernen Sie die durchstechbaren Kappen und setzen Sie neue undurchstechbare Kappen auf die Probenferröhrchen. Wenn Proben zum Test an eine andere Einrichtung versandt werden müssen, müssen die empfohlenen Temperaturen eingehalten werden.
4. Vor der Entfernung des Deckels von bereits getesteten und wieder verschlossenen Patientenproben müssen die Probentransportgefäße 5 Minuten bei 420 RCF (Relative Zentrifugalkraft) zentrifugiert werden, um die gesamte Flüssigkeit zum Boden des Gefäßes zu bringen. **Spritzer und Kreuzkontamination vermeiden.**

Hinweis: Ein Versand der Patientenproben muss in Übereinstimmung mit geltenden nationalen, internationalen und regionalen Frachtbestimmungen erfolgen.

Panther System

Nachstehend sind die Reagenzien für den Aptima HSV 1 & 2 Assay für das Panther System gelistet. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben dem Reagenznamen angegeben.

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay-Kit

100 Tests (2 Assay-Boxen und 1 Kit mit Kontrollen). Kat. Nr. PRD-03568

Kontrollen sind separat erhältlich. Siehe nachfolgend die jeweilige Katalognummer.

Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay Gefrierbox (Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
A	Amplifikationsreagenz <i>Nicht-infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet, in Pufferlösung.</i>	1 Fläschchen
E	Enzymreagenz <i>Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase, getrocknet, in HEPES-Pufferlösung.</i>	1 Fläschchen
PRO	Promotorreagenz <i>Nicht-infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet, in Pufferlösung.</i>	1 Fläschchen
IC	Interne Kontrolle <i>Nicht-infektiöse Nukleinsäuren in Pufferlösung</i>	1 x 0,3 ml

Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay Raumtemperaturbox (Lagerung bei 15 °C bis 30 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
AR	Amplifikationsrekonstitutionslösung <i>Wässrige Lösung mit Glycerol und Konservierungsmitteln.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Enzymrekonstitutionslösung <i>HEPES-gepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz und Glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Promotorrekonstitutionslösung <i>Wässrige Lösung mit Glycerol und Konservierungsmitteln.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Target Capture-Reagenz <i>Nukleinsäuren in einer gepufferten Salzlösung mit nicht-infektiösen Nukleinsäuren in der Festphase.</i>	1 x 26,0 ml
	Rekonstitutionsverbindungsstücke	3
	Barcode-Blatt für Hauptcharge	1 Blatt

Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay Kontrollenkit (Kat. Nr. PRD-03569)
(Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
KONTROLLE –	Negativkontrolle Gepufferte Lösung.	5 x 2,7 ml
KONTROLLE +	Positivkontrolle Nicht-infektiöse Nukleinsäuren in Pufferlösung	5 x 1,7 ml
	Barcode-Blatt der Kontrolle	1 Blatt

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: Materialien mit angegebenen Katalognummern sind von Hologic erhältlich, sofern nicht anders angegeben.

Material	Kat.- Nr.
Panther System	303095
Panther Durchlaufkit für Echtzeitassays (nur für Echtzeitassays)	PRD-03455 (5000 Tests)
<i>Aptima Assay-Flüssigkeitskit (auch als Universalflüssigkeitskit bezeichnet)</i> <i>enthält Aptima Waschlösung, Aptima Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima Ölireagenz</i>	303014 (1000 Tests)
Multi-Röhrchen-Einheiten (MTU)	104772-02
Panther Entsorgungsbeutel-Kit	902731
Panther Abfallabdeckung	504405
Oder Panther Durchlaufkit	303096 (5000 Tests)
<i>(Wenn Echtzeit- und Nicht-Echtzeit-TMA-Assays gleichzeitig laufen)</i> <i>Enthält MTUs, Entsorgungsbeutel, Abfallabdeckungen, Auto Detect und Assayflüssigkeiten</i>	
Aptima Assayflüssigkeitskit	303014 (1000 Tests)
<i>(enthält Aptima Waschlösung, Aptima Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima Ölireagenz)</i>	
Multi-Röhrchen-Einheiten (MTU)	104772-02
Spitzen, 1000 µl, gefiltert, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung und Einwegmaterial	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Nicht alle Produkte sind in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an Ihren Vertreter, um regionsspezifische Informationen zu erhalten.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Aptima Probentransferkit	301154C
<i>Zur Verwendung mit Patientenproben in VTM</i>	
Aptima Probentransferkit – druckfähig	PRD-05110
<i>Zur Verwendung mit Patientenproben in VTM</i>	
P1000 Spitzen	—
Aptima Multitest-Probenentnahmekit für Abstriche	PRD-03546
Chlorbleiche, 5,0 % bis 8,25 % (0,7 M bis 1,16 M) Natriumhypochloritlösung	—
Ungepuderte Einweghandschuhe	—
Aptima Durchstechverschlüsse	105668

Ersatzkappen, undurchlässig	103036A
Ersatzkappen für Reagenzien	—
<i>Rekonstitutionslösungen für Amplifikations-, Enzym- und Promoter-Reagenz</i>	
<i>CL0041 (100 Kappen)</i>	
<i>TCR</i>	<i>501604 (100 Kappen)</i>
Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite	—
Fussfreie Tücher	—
Pipette	—
Spitzen	—
Vortexer	—

Optionale Materialien	Kat.- Nr.
Wippschüttler für Röhrchen	—

Testverfahren mit dem Panther System

Hinweis: Nähere Verfahrensinformationen finden Sie in der Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System.

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

1. Die Arbeitsflächen reinigen, auf denen die Reagenzien vorbereitet werden. Wischen Sie die Arbeitsflächen mit einer 2,5 %-igen bis 3,5 %-igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung ab. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken. Spülen Sie sie anschließend mit deionisiertem Wasser ab. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen.
2. Eine separate Arbeitsfläche, auf der die Proben vorbereitet werden, reinigen. Dabei wie oben beschrieben (Schritt A.1) vorgehen.
3. Decken Sie die Arbeitsflächen, auf denen die Reagenzien und Proben vorbereitet werden, mit sauberen, absorbierenden Labortischunterlagen mit Kunststoffunterschicht ab.
4. Die Pipettierer mit einer 2,5 %-igen bis 3,5 %-igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung abwischen. Lassen Sie die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken. Spülen Sie sie anschließend mit deionisiertem Wasser ab. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen.

B. Reagenzrekonstitution/Vorbereitung eines neuen Kits

Hinweis: Die Reagenzrekonstitution sollte vor Beginn von Arbeiten mit dem Panther System durchgeführt werden.

1. Vor dem Test müssen Amplifikations-, Enzym- und Promoter-Reagenzien rekonstituiert werden, indem der Inhalt der Flaschen mit gefriergetrocknetem Reagenz mit entsprechender Rekonstitutionslösung kombiniert wird.
 - a. Lassen Sie die gefriergetrockneten Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) aufwärmen.
 - b. Paaren Sie jede Rekonstitutionslösung mit ihrem lyophilisierten Reagenz. Vor Anschluss des Rekonstitutionsverbindungsstücks kontrollieren, dass Rekonstitutionslösung und Reagenz übereinstimmende Symbole auf den Etiketten aufweisen.
 - c. Prüfen Sie die Chargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt, um sicherzustellen, dass die richtigen Reagenzien miteinander gepaart wurden.

- d. Öffnen Sie das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz und stecken Sie das gekerbte Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks fest in die Fläschchenöffnung (Abbildung 1, Schritt 1).
- e. Öffnen Sie die Flasche mit der entsprechenden Rekonstitutionslösung und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
- f. Halten Sie die Flasche mit der Rekonstitutionslösung auf dem Labortisch fest und stecken Sie das andere Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks in die Flaschenöffnung (Abbildung 1, Schritt 2).
- g. Drehen Sie die zusammengebauten Flaschen langsam um. Lassen Sie die Lösung aus der Flasche in das Glasfläschchen ablaufen (Abbildung 1, Schritt 3).
- h. Mischen Sie die Lösung in der Flasche durch behutsames Schwenken. Beim Schwenken der Flasche Schaumbildung vermeiden (Abbildung 1, Schritt 4).
- i. Warten Sie mindestens 15 Minuten bis sich das gefriergetrocknete Reagenz aufgelöst hat, und drehen Sie dann die zusammengefügte Flaschen erneut um. Ein Neigungswinkel von 45° ermöglicht, die Schaumbildung auf ein Mindestmaß zu beschränken (Abbildung 1, Schritt 5). Lassen Sie die gesamte Flüssigkeit in die Plastikflasche zurücklaufen.
- j. Entfernen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Glasfläschchen (Abbildung 1, Schritt 6).
- k. Verschließen Sie die Plastikflasche wieder. Die Initialen des Anwenders und das Rekonstitutionsdatum auf das Etikett schreiben (Abbildung 1, Schritt 7).
- l. Rekonstitutionsverbindungsstück und Glasfläschchen entsorgen (Abbildung 1, Schritt 8).

Warnung: Bei der Rekonstitution von Reagenzien Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.

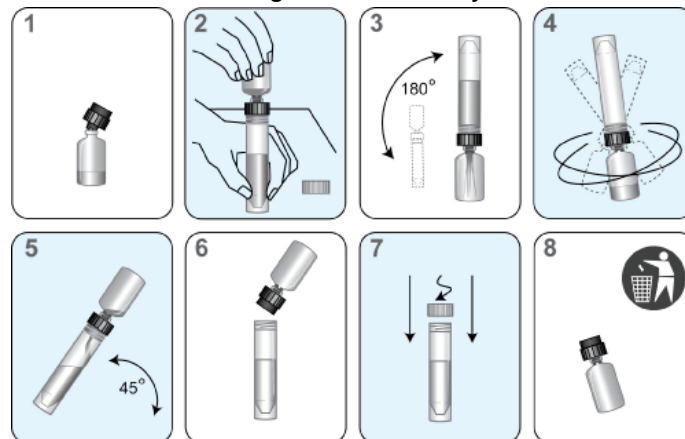


Abbildung 1. Rekonstitution von Reagenzien

2. Vorbereitung von Target Capture-Arbeitsreagenz (wTCR)
 - a. Stellen Sie sicher, dass die richtigen Flaschen TCR und IC miteinander gepaart wurden.
 - b. Prüfen Sie die Reagenzchargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt, um sicherzustellen, dass die entsprechenden Reagenzien im Kit miteinander gepaart wurden.
 - c. Öffnen Sie die Flasche mit TCR und legen Sie den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
 - d. Öffnen Sie die Flasche mit IC und gießen Sie den gesamten Inhalt in die Flasche mit TCR. Sie können erwarten, dass eine geringe Menge Flüssigkeit in der IC-Flasche verbleibt.

- e. Die Flasche verschließen und die Lösung behutsam schwenken, um den Inhalt zu durchmischen. Vermeiden Sie während dieses Schritts Schaumbildung.
- f. Tragen Sie die Initialen des Anwenders und das aktuelle Datum auf dem Etikett ein.
- g. Entsorgen Sie die IC-Flasche und den Deckel.

C. Reagenzienvorbereitung für bereits angesetzte Reagenzien

1. Zuvor vorbereitete Amplifikations-, Enzym- und Promotorreagenzien müssen vor dem Start des Assays auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gebracht werden.

Option: Das zusätzliche Mischen von Amplifikation, Enzym und Sondenreagenzien mithilfe einer Wippe für Röhrchen ist zulässig. Die Reagenzien können gemischt werden, indem die wieder verschlossene Plastikflasche mindestens 25 Minuten auf einem Wippschüttler für Röhrchen platziert wird, der auf 20 U/min (oder äquivalent) eingestellt ist.

2. Wenn das wTCR ein Präzipitat enthält, erwärmen Sie es bis zu 90 Minuten lang auf 42 °C bis 60 °C. Lassen Sie das wTCR vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen. Nicht verwenden, wenn immer noch ein Präzipitat vorhanden ist.
3. Stellen Sie sicher, dass die Reagenzien nicht ihre Lagerstabilitätszeiten, einschließlich der Onboard-Stabilität überschritten haben.
4. Mischen Sie alle Reagenzien vor dem Laden in das System durch vorsichtiges Umdrehen gründlich durch. Beim Umdrehen von Reagenzien Schaumbildung vermeiden. Dieser Schritt ist nicht erforderlich, wenn Reagenzien nach dem Mischen auf dem Wippschüttler für Röhrchen direkt in das System geladen werden.
5. Reagenzflaschen nicht nachfüllen. Das Panther System erkennt Flaschen, die nachgefüllt wurden, und nimmt sie nicht an.

Warnung: *Ausreichendes Mischen der Reagenzien ist erforderlich, um die erwarteten Testergebnisse zu erhalten.*

D. Probenhandhabung

1. Lassen Sie die Kontrollen und Proben vor der Verarbeitung auf Raumtemperatur kommen.
2. **Proben nicht mit dem Vortex-Mischer mischen.**
3. Überprüfen Sie optisch, dass jedes Probenröhrchen eines der folgenden Kriterien erfüllt:
 - a. Im Aptima Multitest-Probenröhrchen für Abstriche befindet sich jeweils ein einzelner rosafarbener Aptima Entnahmetupfer.
 - b. Aptima Probenentransferröhrchen für VTM-Proben enthalten keinen Probenentnahmetupfer.
4. Prüfen Sie die Probengefäße vor dem Laden in den Ständer:
 - a. Wenn sich in einem Transportröhrchen im Raum zwischen der Flüssigkeit und dem Deckel Luftblasen befinden, zentrifugieren Sie das Röhrchen 5 Minuten bei 420 RCF, um die Luftblasen zu entfernen.
 - b. Weist ein Probenröhrchen ein geringeres Volumen auf, als in der Regel vorliegt, wenn die Sammelanleitung befolgt wurde, zentrifugieren Sie das Röhrchen 5 Minuten bei 420 RCF, um sicherzustellen, dass sich keine Flüssigkeit im Deckel befindet.

Hinweis: *Bei Nichtbefolgen der Schritte 4a - 4b kann aus dem Deckel des Probenröhrchens Flüssigkeit austreten.*

Hinweis: *Pro Probenröhrchen können bis zu 4 getrennte Aliquote getestet werden. Wenn versucht wird, mehr als 4 Aliquote aus einem Probenröhrchen zu pipettieren, kann es zu Fehlern aufgrund unzureichender Mengen kommen.*

E. Vorbereitung des Systems

1. Richten Sie das System entsprechend den Anweisungen in der *Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System* und unter *Verfahrenshinweise* ein. Achten Sie darauf, dass Reagenzienständer und TCR-Adapter geeigneter Größe verwendet werden.

Verfahrenshinweise

A. Kontrollen

1. Die Röhren mit Positivkontrolle und Negativkontrolle können in eine beliebige Ständerposition bzw. Bahn im Probenfach des Panther Systems geladen werden. Das Pipettieren der Proben beginnt, wenn eine der beiden folgenden Bedingungen erfüllt ist:
 - a. Die Kontrollen werden derzeit vom System behandelt.
 - b. Gültige Ergebnisse für die Kontrollen werden auf dem System registriert.
2. Sobald die Kontrollenröhren für ein bestimmtes Reagenzienkit pipettiert wurden und in Bearbeitung sind, können mit dem dazugehörigen Kit bis zu 24 Stunden lang Patientenproben getestet werden, **es sei denn, dass:**
 - a. Die Kontrollergebnisse sind ungültig.
 - b. Das zugehörige Assayreagenzienkit wird aus dem System genommen.
 - c. Die Haltbarkeit des zugehörigen Assayreagenzienkits überschritten ist.
3. Jedes Kontrollröhren kann einmal getestet werden. Wenn versucht wird, mehr als einmal aus dem Röhren zu pipettieren, kann es zu Fehlern aufgrund unzureichender Mengen kommen.

B. Temperatur

Raumtemperatur ist definiert als 15 °C bis 30 °C.

C. Handschuhpuder

Wie in jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Röhren verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe empfohlen.

Qualitätskontrolle

A. Laufvaliditätskriterien

Die Software stellt automatisch die Gültigkeit des Durchlaufs fest. Die Software wird einen Durchlauf für ungültig erklären, wenn eine oder beide Kontrollen (negativ und positiv) ungültige Ergebnisse erbringen.

Der Bediener kann einen Durchlauf ungültig machen, wenn bei der Durchführung des Assays technische Schwierigkeiten oder Schwierigkeiten des Bedieners bzw. Gerätes beobachtet und dokumentiert werden.

Ein ungültiger Durchlauf muss wiederholt werden.

B. Gültigkeit der Kontrolle

Tabelle 1 definiert die TTime Validitätskriterien für die Negativ- und Positivkontrollen.

Tabelle 1: TTime Validitätskriterien

	IC TTime	HSV-1 TTime	HSV-2 TTime
Negativkontrolle	≥ 7,0 und ≤ 40,0	-	-
Positivkontrolle	≥ 7,0 und ≤ 53,0	≥ 3,0 und ≤ 35,0	≥ 3,0 und ≤ 35,0

Hinweis: Externe Qualitätskontrollproben (nicht mitgeliefert) sollten in Übereinstimmung mit örtlichen, bundesstaatlichen und/oder bundesweiten regulatorischen oder Akkreditierungs-Anforderungen und den Standard-Qualitätskontrollverfahren jedes Labors getestet werden.

Hinweis: Bei Kontrollen außerhalb des Messbereichs (out-of-range controls), kontaktieren Sie bitte den technischen Kundendienst von Hologic.

Hinweis: Wenn TTime nicht berechnet werden kann, wird ein Strich (-) angezeigt.

Testauswertung

Die Testergebnisse werden automatisch von der Assay-Software ermittelt. Ergebnisse für die HSV-1 und HSV-2-Detektion werden separat ausgewiesen. Tabelle 2 zeigt die möglichen Ergebnisse, die in einem gültigen Durchlauf angegeben werden und die Interpretationen des Ergebnisses. Proben mit ungültigen Testergebnissen müssen erneut getestet werden. Es ist das erste gültige Ergebnis anzugeben.

Tabelle 2: Ergebnisinterpretation

HSV-1 Ergebnisse	HSV-2 Ergebnisse	Auswertung
HSV1 neg	HSV2 neg	Negativ: Keine HSV-1 oder HSV-2 mRNA detektiert
HSV1 neg	HSV2 POS	HSV-2 positiv: HSV-2 mRNA nachgewiesen
HSV1 POS	HSV2 neg	HSV-1 positiv: HSV-1 mRNA nachgewiesen
HSV1 POS	HSV2 POS	HSV-1 und HSV-2 positiv: HSV-1 und HSV-2 mRNA nachgewiesen
Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)	Ungültig: Bei der Bestimmung ist ein Fehler aufgetreten. Die Probe sollte noch einmal getestet werden.

Tabelle 3 zeigt TTime-Kriterien für die Bestimmung des Ergebnisses für eine bestimmte Patientenprobe. Ein Test kann auch aufgrund anderer Parameter, die außerhalb der normalen Erwartungswerte liegen, ungültig sein.

Tabelle 3: TTime-Kriterien

	IC TTime	HSV-1 TTime	HSV-2 TTime
Negativ	≥ 7,0 und ≤ 45,0	-	-
HSV1 positiv	- oder ≥ 7,0 und ≤ 53,0	≥ 3,0 und ≤ 53,0	-
HSV2 negativ			
HSV1 negativ	- oder ≥ 7,0 und ≤ 53,0	-	≥ 3,0 und ≤ 53,0
HSV2 positiv			
HSV1 positiv	- oder ≥ 7,0 und ≤ 53,0	≥ 3,0 und ≤ 53,0	≥ 3,0 und ≤ 53,0
HSV2 positiv			
Invalid (Ungültig)	-	-	-

Hinweis: Wenn TTime nicht berechnet werden kann, wird ein Strich (-) angezeigt.

Einschränkungen

- A. Dieser Assay darf nur von geschulten Mitarbeitern durchgeführt werden, die im Verfahren unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.
- B. Zuverlässige Ergebnisse hängen von der korrekten Entnahme, dem Transport, der Lagerung und der Verarbeitung der Patientenproben ab.
- C. Das Produkt ist nicht für Verwendung mit Liquor oder für pränatales Screening vorgesehen.
- D. Die Ergebnisse des Aptima HSV 1 & 2 Assays sollten in Verbindung mit anderen dem Arzt verfügbaren klinischen Daten gewertet werden.
- E. Ein negatives Ergebnis des Aptima HSV 1 & 2 Assays schließt eine mögliche Infektion nicht aus, weil die Ergebnisse von der angemessenen Probenentnahme abhängen. Die Testergebnisse können durch eine unsachgemäße Probenentnahme, technische Fehler, das klinische Stadium der beprobten Läsion oder Target-Konzentrationen unter der Nachweisgrenze des Tests beeinträchtigt sein.

Analytische Assay-Leistung des Panther Systems

Virustransportmedien (Viral Transport Media, VTM)

Die Leistung des Aptima HSV 1 & 2 Assay wurde mit gängigen Typen von VTM (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 und Remel M5) bewertet. Jedes Medium wurde separat mit Viruspartikel des HSV-1 MacIntyre-Stammes oder HSV-2 MS-Stammes auf ~ 3x der Nachweisgrenze (LoD) gespikt. Jedes Panel wurde dann gemäß den Anweisungen in der STM-Packungsbeilage übertragen. Um eine mögliche Interferenz der verschiedenen Arten von VTM zu bewerten, wurden HSV-negative (nicht gespikte) Panels ebenfalls in STM verdünnt und bei 40 Replikaten pro Panel getestet. Alle negativen Panels waren 100 % gültig und negativ und alle HSV-1 oder HSV-2 gespikten Panels waren 100 % positiv für den entsprechenden HSV-Typ.

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität/LoD des Aptima HSV 1 & 2 Assay wurde durch Testen einer Reihe von Panels mit HSV-1 oder HSV-2 Virus verdünnt in gepoolten negativen klinischen Patientenproben sowohl in STM als auch VTM verdünnt in STM-basierten Matrizen bestimmt. Für HSV-1 wurden MacIntyre- und HF-Virenstämme getestet. Für HSV-2 wurden MS- und G-Stämme getestet. Mindestens 60 Replikate wurden bei jeder Konzentration für jedes Panel-Mitglied für jede Matrix und Virusstamm mit 3 Reagenzienchargen getestet.

Es wurde eine Probit-Regressionsanalyse durchgeführt, um die prognostizierte 95 % Nachweisgrenze für jeden HSV-Stamm in jeder Matrix in jeder Charge zu bieten. Die Nachweisgrenze (LoD) wurde bestimmt als diejenige Konzentration, bei der ≥ 95 % Positivität bei den getesteten Replikaten basierend auf der höchsten Berechnung unter den drei Reagenzchargen erreicht wird.

Tabelle 4: HSV 1 & 2 LoD VTM und STM

HSV-Typ/Stamm	Probenart	LoD
		TCID50/ml (95 % Konfidenz)
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)

Überprüfung der Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) wurde mit zwei klinischen Isolaten von HSV-1 und zwei klinischen Isolaten von HSV-2, die aus HSV-positiven klinischen Proben isoliert, kultiviert und in-house quantifiziert wurden, überprüft. Jedes Isolat wurde mit dem Aptima HSV 1 & 2 Assay mit jeweils 60 Replikaten bei 1x LoD, 3x LoD und 10x LoD getestet. Die Tests wurden sowohl in einer STM- als auch einer VTM-Matrix für alle vier klinischen Isolate und mit 3 Chargen von Reagenzien durchgeführt. Alle Replikate für alle klinischen Isolate bei allen drei getesteten Konzentrationen wurden vom Aptima HSV 1 & 2 Assay nachgewiesen. Dies zeigt, dass der Assay einen Messbereich der beiden HSV-1 und HSV-2 Isolate bei der bestimmten LoD akkurat nachweisen kann.

Koinfektion

Panels wurden mit HSV-1 Viruspartikeln bei 3x LoD und HSV-2 Virus bei 1000x LoD und HSV-2 bei 3x LoD und HSV-1 bei 1000x LoD hergestellt. Zusätzliche Panels wurden mit HSV-2 mit 100x der Konzentration von HSV-1 bei 3x LoD erstellt. Alle Tests erbrachten den 100 % Nachweis für HSV-1 sowie HSV-2.

Kreuzreaktivität

Zur Evaluierung der analytischen Sensitivität und Spezifität des Aptima HSV 1 & 2 Assay in Gegenwart von Non-Target-Mikroorganismen, die in klinischen Proben vorhanden sein könnten, wurden Panels von Non-Target-Mikroorganismen in STM mit einer Testkonzentration von 1×10^5 Einheiten/ml für Viren und 1×10^6 Einheiten/ml für alle anderen Organismen erstellt. Organismen wurden in Abwesenheit von HSV oder in Gegenwart von HSV-1 oder HSV-2 bei 3x LoD getestet. 47 der 48 getesteten Mikroben hatten keine Auswirkung auf die Leistung des Assays bei 1×10^6 Einheiten/ml; *Streptococcus pneumoniae* zeigte keine Interferenz bei 1×10^5 Einheiten/ml (Tabelle 5).

Tabelle 5: Analytische Spezifität

Mikroorganismus	Konzentration
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Actinomyces israelii</i>	1×10^6 RNA-Kopien/ml ²
Adenovirus Typ 1	1×10^5 TCID ₅₀ /ml ³
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1×10^6 KBE/ml ¹
<i>Atopobium vaginae</i>	1×10^6 RNA-Kopien/ml ²
<i>Bacteriodes fragilis</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
BK-Virus	1×10^5 DNA-Kopien/ml ³
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Candida glabrata</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Clostridium difficile</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Clostridium perfringens</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Enterococcus faecium</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
Epstein-Barr-Virus	1×10^5 DNA-Kopien/ml ³
<i>Escherichia coli</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10^6 KBE/ml ^{1,2}

Tabelle 5: Analytische Spezifität (Fortsetzung)

Mikroorganismus	Konzentration
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
Hepatitis-B-Virus	1x10 ⁵ IE/ml ^{4,3}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Mycoplasma hominis</i>	1 x 10 ⁶ RNA-Kopien/ml ²
<i>Mycoplasma orale</i>	1 x 10 ⁶ RNA-Kopien/ml ²
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
Parvovirus B19	1 x 10 ⁵ TCID50/ml ³
<i>Prevotella bivia</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus mitis</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.000 KBE/ml ^{1,2}
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁶ KBE/ml ^{1,2}
Varicella-Zoster-Virus	1 x 10 ⁵ DNA-Kopien/ml ³
West-Nil-Virus	1 x 10 ⁵ TCID50/ml ³

¹KBE = koloniebildende Einheiten.

²Intern beschafft von Hologic, Inc.

³Erhalten von ZeptoMetrix Corporation (Buffalo NY).

⁴IE=internationale Einheiten.

Interferenz

Potenziell störende Substanzen, aufgeführt in Tabelle 6, wurden im Aptima HSV 1 & 2 Assay bei anfänglichen Konzentrationen von 5 % Vol/Vol (V/V), das entspricht 100 % der Tupferkapazität (Swab Capacity, SC), getestet; oder bei Konzentrationen von 0,03 % bzw. 5 % Gew/Vol (W/V); oder 4 x 10⁵ Zellen/ml für Leukozyten. Panels wurden in STM erstellt und auf mögliche Auswirkungen hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität des Assays ausgewertet. Sensitivitätsleistung wurde separat für HSV-1 bzw. HSV-2 durch Spiken von Viruspartikeln in Substanz enthaltenden Panels bei 3x die LoD evaluiert. HSV-negative Panels, die jede der Substanzen enthielten, wurden ebenfalls auf Spezifität untersucht.

Keine Auswirkung auf die Leistung des Assays wurde in Anwesenheit einer der folgenden exogenen Substanzen repräsentativer Marken bei 5 % W/V oder V/V (100 % SC) beobachtet: Vaginales Gleitmittel; Creme gegen Pilz; Intimpfänger; Spray für Frauen; Arzneimittel für Lippenherpes; Lippenbalsam; Körperlotion; Körperpuder; Eisessig-Waschlösung; Hämorrhoidensalbe; Hustenmittel; Zahnpasta; und Mundwasser. Spermizid-/Verhütungsgels verursachten keine Interferenz bei einer Konzentration von 4 % W/V bzw. 80 % der SC. Keine Interferenz wurde in Gegenwart einer repräsentativen Marke eines antiviralen Arzneimittels bei 5 % W/V beobachtet. Keine Auswirkung auf die Leistung des Assays wurde bei den folgenden getesteten endogenen Substanzen bei 5 % V/V oder W/V (100 % SC) beobachtet: Urin, Schleim und Samenflüssigkeit. Keine Interferenz wurde bei den folgenden endogenen Substanzen bei festgelegten Endkonzentrationen beobachtet: Leukozyten (4×10^5 Zellen/ml); Speichel (4 % W/V / 80 % SC); Protein (4 % W/V / 80 % SC); Vollblut (0,5 % V/V / 10 % SC) und Kot (0,03 % W/V / 0,6 % SC).

Tabelle 6: Interferierende Substanzen

Substanz	Marke/Quelle	Endkonzentration*
Vaginales Gleitmittel	KY Gel	5 % V/V
Spermizid/Verhütungsgel	Optionen Gynol II	4 % W/V
Creme gegen Pilz	Monistat 3	5 % W/V
Intimpfänger	Up & Up Feminine Wash (Damendusche)	5 % V/V
Spray für Frauen	FDS Deodorantspray für Frauen	5 % W/V
Arzneimittel für Lippenherpes	Releev	5 % W/V
Lippenbalsam	Carmex	5 % W/V
Körperlotion	Vaseline Aloe Fresh	5 % W/V
Puder	Summer's Eve Powder (Augenpuder)	5 % W/V
Eisessig-Waschlösung	Eisessig-Waschlösung	5 % V/V
Hämorrhoidensalbe	Präparation H	5 % W/V
Urin	Harnauffangbeutel vor Ort	5 % V/V
Vollblut	Entnahme Vollblut vor Ort	0,5 % V/V
Leukozyten	Leukozyten von Biological Specialty Corporation	4×10^5 Zellen/ml
Speichel	Speichelprobe vor Ort	4 % W/V
Schleim	Mucin von Sigma Aldrich	0,3 % W/V
Samenflüssigkeit	Samenflüssigkeit	5 % V/V
Kot	Kot	0,03 % W/V
Hustenmittel	Dayquil	5 % V/V
Zahnpasta	Sensodyne	5 % W/V
Protein	Kasein	4 % W/V
Antivirales Medikament	Acyclovir	5 % W/V
Mundwasser	Listerine	5 % V/V

*Endkonzentrationen stellen die endgültige Konzentration (final concentration, FC) in der Probe beim Test im Panther Gerät dar. Entnahmebedingungen SC, 5 % FC = 100 % SC; 4% FC = 80 % SC; 0,5 % FC = 10 % SC; 0,03 % FC = 0,6 % SC

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des Aptima HSV 1 & 2 Assay wurde an drei Standorten außerhalb der USA bewertet. Die Tests wurden unter Verwendung von drei Chargen Testreagenzien von sechs Anwendern (zwei an jedem Standort) durchgeführt. An jedem Standort wurden mindestens sechs Tage lang Tests durchgeführt. Die Panelemente wurden durch Spiken von HSV-1 und/oder HSV-2 Viruspartikeln in STM hergestellt. HSV-1 Endkonzentrationen lagen im Bereich von 0 TCID₅₀/ml bis 86,96 TCID₅₀/ml und HSV-2 Endkonzentrationen lagen im Bereich von 0 TCID₅₀/ml bis 1,63 TCID₅₀/ml.

Die Robustheit des Aptima HSV 1 & 2 Assay wurde durch Tests von HSV-negativen Panelementen und Panelementen mit niedrigen und mäßigen HSV-1 und HSV-2 Spiegeln bewertet. Die Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen lag bei 100 % für HSV-1 und HSV-2 bei den negativen und mäßig positiven Panelementen und bei ≤ 100 % bei den Panelementen mit Konzentrationen in der Nähe oder unterhalb der 95 % LoD des Assays in STM, das mit Viruspartikeln gespikt war.

Tabelle 7 zeigt die Übereinstimmung von Ergebnissen des Aptima HSV 1 & 2 Assay mit erwarteten Ergebnissen für alle Panelemente.

Tabelle 7: Übereinstimmung der Aptima HSV 1 & 2 Assay-Ergebnisse mit den zu erwartenden Ergebnissen

Konz.		Target-Konz. (TCID ₅₀ /ml)		Erwartetes Ergebnis		N	Übereinst. (n)		Übereinstimmung (%) (95 % VI)	
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)

VI = Wert Vertrauensintervall, Konz. = Konzentration, HNeg = stark negativ, LPos = gering positiv, MPos = mäßig positiv, Neg = negativ, Pos = positiv.

Tabelle 8 zeigt die HSV-1 und HSV-2 Signalvariabilität bei gering und mäßig positiven Panelementen zwischen Standorten, Anwendern, Chargen, Tagen, Läufen und insgesamt bei Panelementen mit positiven Ergebnissen des Aptima HSV 1 & 2 Assay.

Tabelle 8: Signalvariabilität des Aptima HSV 1 & 2 Assay bei gering positiven Panelementen

Virus	Konz.	N	Mean (Mittelwert) TTime	Zwischen	Zwischen	Zwischen	Zwischen	Zwischen	Innerhalb	Gesamt
				Standorten	Anwendern	Chargen	Tagen	Läufen	der Läufe	
				SAT	SAT	SAT	SAT	SAT	SAT	SAT
				(% VK)	(% VK)	(% VK)	(% VK)	(% VK)	(% VK)	(% VK)
HSV-1	LPos	103	24,68	0 (0)	0,23 (0,95)	1,63 (6,62)	0,71 (2,89)	0,54 (2,18)	0,88 (3,55)	2,07 (8,40)
	LPos	97	23,91	0 (0)	0 (0)	2,18 (9,11)	0,86 (3,58)	0 (0)	1,60 (6,71)	2,84 (11,87)
	MPos	108	22,96	0 (0)	0,22 (0,97)	1,54 (6,69)	0,31 (1,34)	0,68 (2,96)	0,94 (4,11)	1,96 (8,55)
HSV-2	LPos	105	25,49	0 (0)	0,70 (2,74)	0,84 (3,30)	0 (0)	0 (0)	2,52 (9,87)	2,74 (10,76)
	LPos	108	25,34	0 (0)	0 (0)	1,54 (6,08)	0,86 (3,41)	0,59 (2,34)	2,67 (10,53)	3,26 (12,85)
	MPos	108	22,91	0 (0)	0 (0)	1,09 (4,76)	0,35 (1,53)	0,42 (1,83)	1,06 (4,64)	1,62 (7,07)

Konz. = Konzentration, VK = Variationskoeffizient, LPos = gering positiv, MPos = mäßig positiv, SAT = Standardabweichung.

Hinweis: Variabilität von einigen Faktoren kann möglicherweise zahlenmäßig negativ sein. Dies kann auftreten, wenn die Variabilität aufgrund solcher Faktoren sehr gering ist. In diesen Fällen gelten SAT und VK gleich 0.

HSV-2 Oral künstlich hergestellt

Das Testen mit dem Aptima HSV 1 & 2 Assay wurde unter Verwendung einer künstlich hergestellten klinischen Patientenprobenmatrix durchgeführt, um weitere Leitungsdaten für die Detektion von HSV-2 in oralen Proben bereitzustellen. HSV-2 MS-Stamm Viruspartikel wurden in HSV-negativen VTM oder STM oralen klinischen Matrizen bei 3x LoD oder 1000x LoD für jedes Medium gespikt. Fünfzehn Replikate von HSV-negativen Proben, fünfundzwanzig Replikate von HSV-2 bei 3x LoD und fünfundzwanzig Replikate von HSV-2 bei 1000x LoD für beide VTM und STM-Matrizen wurden von für den Panelinhalt verblindeten Anwendern getestet. Die Ergebnisse zeigten eine 100 %-ige Detektion von HSV-2-haltigen positiven, oralen, künstlich hergestellten Panels und 0 % Detektion bei allen negativen Proben sowohl in klinischen STM- als auch VTM-Matrizen.

Klinische Assay-Leistung des Panther Systems

Klinische Leistungsdaten

Eine prospektive, multizentrische klinische Studie wurde durchgeführt, um die Leistungsmerkmale des Aptima HSV 1 & 2 Assay festzustellen. Männliche und weibliche Patienten (n = 839) mit aktiven Hautläsionen in anogenitalen¹ oder in oralen² Regionen wurden aus 19 Klinikstandorten in den Vereinigten Staaten aufgenommen. Erfasst wurden: Familienplanung, Dermatologie, Pädiatrie/Jugendmedizin, sexuell übertragbare Infektionen, private Praxen und öffentliche Gesundheitszentren, Krankenhäuser, Universitäten und klinische Forschungsstandorte. Von jedem Patienten wurden zwei (2) Abstrichproben derselben Läsion genommen: Eine wurde mit einem Tupfer aus einem handelsüblichen VTM-Entnahmekit und die andere mit einem Tupfer aus dem Aptima Multitest Probenentnahmekit für Abstriche entnommen. Die Patientenproben wurden gemäß entsprechender Anweisungen in der Packungsbeilage behandelt und mit der Viruskultur des ELVIS HSV-ID und D³-Typing Test Systems und einem validierten bidirektionalen PCR/Sequenzierungsverfahren getestet, um eine gemischte Referenzmethoden-Interpretation für HSV-1 und HSV-2 zu schaffen. Die gemischte Referenzmethoden-Interpretation galt als: A) positiv, wenn entweder das ELVIS HSV-ID und das D³-Typing Test System der Viruskultur oder die PCR/Sequenzierung ein positives Ergebnis für den HSV-Typ (HSV-1 oder HSV-2) aufwies und B) negativ, wenn die PCR/Sequenzierung ein negatives Ergebnis für einen HSV-Typ aufwies und das ELVIS HSV-ID und D³-Typing Test System der Viruskultur ein negatives Ergebnis (oder ein positives Ergebnis für den anderen HSV-Typ³) zeigte. Die Patientenproben wurden mit einem von der FDA zugelassenen Assay für HSV-1 und HSV-2 getestet, um den HSV-Typ abzuklären, wenn: A) durch PCR/Sequenzierung HSV-1 und HSV-2 nachgewiesen wurde und B) die kombinierten Ergebnisse der gemischten Referenzmethodentests für beide HSV-Typen positiv waren.

Die klinische Leistung des Aptima HSV 1 & 2 Assay für den Nachweis von HSV-1 und HSV-2 wurde an Patientenproben/Proben, die aus Läsionen des anogenitalen oder oralen Bereichs entnommen wurden, evaluiert. Die Aptima HSV 1 & 2 Assay Testung wurde in 3 externen Laboren durchgeführt. Es wurden 108 Durchläufe mit dem Aptima HSV 1 & 2 Assay durchgeführt; 107 (99,1 %) Durchläufe waren gültig und 1 Durchlauf (0,9 %) wurde aufgrund eines Hardwarefehlers für ungültig erklärt. 1629 Proben wurden in validen Durchläufen mit dem Aptima HSV 1 & 2 Assay getestet; 1628 (99,9 %) hatten ein gültiges Endergebnis und 1 (0,1 %) hatte ein ungültiges Ergebnis aufgrund eines Hardwarefehlers (die Probe wurde nicht erneut getestet, da kein ausreichendes Probenvolumen vorhanden war). Bei 7 Proben (0,4 %) waren die Ergebnisse zunächst ungültig; hiervon wurden 6 erneut getestet und erzielten valide Ergebnisse.

Insgesamt konnten 790 Patienten (285 Männer und 505 Frauen) zur Auswertung in die Leistungsanalyse eingeschlossen werden; 544 hatten Läsionen in der anogenitalen Region und 246 hatten Läsionen im Mundbereich.

Alles in allem variierte die Sensitivität von 93,4 % bis 98,4 % und die Spezifität von 92,8 % bis 99,8 % (Tabelle 9 und Tabelle 10) für den Nachweis von HSV-1 und HSV-2 in Patientenproben/Proben, die aus Läsionen der anogenitalen Region entnommen wurden.

Tabelle 9 zeigt die Sensitivität, die Spezifität, den positiv prädiktiven Wert (PPV) und den negativ prädiktiven Wert (NPV) des Aptima HSV 1 & 2 Assay für den Nachweis von HSV-1 und die Prävalenz von HSV-1 (anhand der gemischten Referenzmethode) in anogenitalen Läsionen für jede Probenart.

1 Dies umfasst Bauch, Anus, Gesäß, Zervix, Vorhaut, Eichel, Leistengegend, Mons Pubis, Penis (Schaft), perianalen Bereich, Damm, Rektum, Hodensack, Oberschenkel, Harnröhre/Harnröhrenöffnung, Vagina, Vulva und andere.

2 Dies beinhaltet Zahnfleisch, Lippen, Mund, Zunge und andere.

3 Das ELVIS HSV-ID und D³-Typing Test System kann ko-infizierte Patientenproben nicht nachweisen. Nur HSV-2 negative Patientenproben können für HSV-1 typisiert werden.

Tabelle 9: Klinische Leistung des Aptima HSV 1 & 2 Assay für den Nachweis von HSV-1 bei anogenitalen Läsionen nach Probenart

Probenart	Läsionsstelle	N	TP	FP	TN	FN	Prä. (%)	Sensitivität % (95 % VI) ³	Spezifität % (95 % VI) ³	Pos. präd. Wert (PPV %) (95 % VI) ⁴	Neg. präd. Wert (NPV %) (95 % VI) ⁴
VTM	Anogenital	528	71	1	451	5 ¹	14,4	93,4 (85,5-97,2)	99,8 (98,8->99,9)	98,6 (93,0-100)	98,9 (97,6-99,6)
	Anogenitalbereich beim Mann	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)
	Anogenitalbereich bei der Frau	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)
Aptima Tupfer STM	Anogenital	531	71	2	454	4 ²	14,1	94,7 (87,1-97,9)	99,6 (98,4-99,9)	97,3 (91,1-99,6)	99,1 (97,9-99,8)
	Anogenitalbereich beim Mann	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)
	Anogenitalbereich bei der Frau	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)

Aptima Tupfer STM = Aptima Multitest Abstrichprobe, Prä. = Prävalenz, VTM = VTM-Probe.

¹Zwei Proben zeigten negative Kulturergebnisse und eine Probe zeigte ein nicht typisierbares HSV positives Kulturergebnis.

²Eine Patientenprobe hatte ein negatives Kulturergebnis und eine Probe zeigte ein nicht typisierbares HSV positives Kulturergebnis.

³Wert VI.

⁴PPV 95 % VI wurde aus dem exakten 95 % VI für das positive Wahrscheinlichkeitsverhältnis und NPV 95 % VI aus dem exakten 95 % VI für das negative Wahrscheinlichkeitsverhältnis berechnet.

Tabelle 10 zeigt die Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV des Aptima HSV 1 & 2 Assay für den Nachweis von HSV-2 und die Prävalenz von HSV-2 (anhand der gemischten Referenzmethode) bei anogenitalen Läsionen für jede Probenart.

Tabelle 10: Klinische Leistung des Aptima HSV 1 & 2 Assay für den Nachweis von HSV-2 bei anogenitalen Läsionen nach Probenart

Probenart	Läsionsstelle	N	TP	FP	TN	FN	Prä. (%)	Sensitivität % (95 % VI) ³	Spezifität % (95 % VI) ³	Pos. präd. Wert (PPV %) (95 % VI) ⁴	Neg. präd. Wert (NPV %) (95 % VI) ⁴
VTM	Anogenital	533	248	7	270	8 ¹	48,0	96,9 (94,0-98,4)	97,5 (94,9-98,8)	97,3 (94,7-98,8)	97,1 (94,6-98,7)
	Anogenitalbereich beim Mann	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)
	Anogenitalbereich bei der Frau	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)
Aptima Tupfer STM	Anogenital	535	253	20	258	4 ²	48,0	98,4 (96,1-99,4)	92,8 (89,1-95,3)	92,7 (89,4-95,3)	98,5 (96,3-99,6)
	Anogenitalbereich beim Mann	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)
	Anogenitalbereich bei der Frau	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)

Aptima Tupfer STM = Aptima Multitest Abstrichprobe, Prä. = Prävalenz, VTM = VTM-Probe.

¹Alle acht Proben hatten negative Kulturergebnisse.

²Alle vier Patientenproben hatten negative Kulturergebnisse.

³Wert VI.

⁴PPV 95 % VI wurde aus dem exakten 95 % VI für das positive Wahrscheinlichkeitsverhältnis und NPV 95 % VI aus dem exakten 95 % VI für das negative Wahrscheinlichkeitsverhältnis berechnet.

Tabelle 11 zeigt die Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV des Aptima HSV 1 & 2 Assay für den Nachweis von HSV-1 und die Prävalenz von HSV-1 (anhand der gemischten Referenzmethode) bei oralen Läsionen für jede Probenart. Die Sensitivität für den Nachweis von HSV-1 in Patientenproben/Proben, die aus dem Mundbereich entnommen wurden, betrug 97,5 % bei Aptima Multitest Abstrichproben und 81,5 % bei VTM-Proben. Von den 22 VTM-Proben mit falsch negativen Ergebnissen für HSV-1 wiesen 19 Proben negative Kulturergebnisse auf. Die Spezifität für den Nachweis von HSV-1 betrug 88,7 % bei Aptima Multitest Abstrichproben und 99,2 % bei VTM-Proben. Neun (9) der 14 Aptima Multitest Abstrichproben mit falsch-positiven Ergebnissen stammten von 2 der 17 Entnahmestandorte, die Proben aus dem Mundbereich entnommen haben.

Tabelle 11: Klinische Leistung des Aptima HSV 1 & 2 Assay für den Nachweis von HSV-1 bei oralen Läsionen nach Probenart

Probenart	N	TP	FP	TN	FN	Prä. (%)	Sensitivität % (95 % VI) ³	Spezifität % (95 % VI) ³	Pos. präd. Wert (PPV %) (95 % VI) ⁴	Neg. präd. Wert (NPV %) (95 % VI) 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)
Aptima Tupfer 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)

Aptima Tupfer STM = Aptima Multitest Abstrichprobe, Präval. = Prävalenz, VTM = VTM-Probe.

¹Neunzehn Proben zeigten negative Kulturergebnisse und eine Probe zeigte ein nicht typisierbares HSV positives Kulturergebnis.

²Alle drei Patientenproben hatten negative Kulturergebnisse.

³Wert VI.

⁴PPV 95 % VI wurde aus dem exakten 95 % VI für das positive Wahrscheinlichkeitsverhältnis und NPV 95 % VI aus dem exakten 95 % VI für das negative Wahrscheinlichkeitsverhältnis berechnet.

Da die meisten oralen HSV-Infektionen durch HSV-1 verursacht werden, war die Prävalenz von im Mundbereich beobachteten HSV-2 Infektionen sehr niedrig (0,9 % bis 1,3 %) (Tabelle 12). Von 235 VTM-Proben und 237 Aptima Multitest Abstrichproben waren nur 2 VTM-Proben und 3 Aptima Multitest Abstrichproben anhand von Referenztests positiv. Die Sensitivität für den Nachweis von HSV-2 in Patientenproben/Proben, die aus dem Mundbereich entnommen wurden, betrug 66,7% bei Aptima Multitest Abstrichproben und 100% bei VTM-Proben. Die eine Aptima Multitest Abstrichprobe aus einer oralen Läsion mit falsch-negativem Ergebnis zeigte ein negatives Kulturergebnis. Wie oben beschrieben, betrug die analytische Sensitivität 100 % für den Nachweis von HSV-2 unter Verwendung von künstlich hergestellten oralen Proben. Die Spezifität für den Nachweis von HSV-2 betrug 100 % bei Aptima Multitest Abstrichproben und 100 % bei VTM-Proben.

Tabelle 12 zeigt die Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV des Aptima HSV 1 & 2 Assay für den Nachweis von HSV-2 und die Prävalenz von HSV-2 (anhand der gemischten Referenzmethode) bei oralen Läsionen für jede Probenart.

Tabelle 12: Klinische Leistung des Aptima HSV 1 & 2 Assay für den Nachweis von HSV-2 bei oralen Läsionen nach Probenart

Probenart	N	TP	FP	TN	FN	Prä. (%)	Sensitivität % (95 % VI) ²	Spezifität % (95 % VI) ²	Pos. präd. Wert (PPV %) (95 % VI) ³	Neg. präd. Wert (NPV %) (95 % VI) 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)
Aptima Tupfer 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)

Aptima Tupfer STM = Aptima Multitest Abstrichprobe, Präv. = Prävalenz, VTM = VTM-Probe.

¹Diese Probe hatte ein negatives Kulturergebnis.

²Wert VI.

³PPV 95 % VI wurde aus dem exakten 95 % VI für das positive Wahrscheinlichkeitsverhältnis und NPV 95 % VI aus dem exakten 95 % VI für das negative Wahrscheinlichkeitsverhältnis berechnet.

Referenzbereich und erwartete Werte

Prävalenz

Die Prävalenz von HSV-1 und HSV-2 in verschiedenen Populationen hängt von den Risikofaktoren bei Patienten wie Alter, Lebensstil sowie der Sensitivität des Tests beim Nachweis von Infektionen ab. Eine Zusammenfassung der Prävalenz von HSV-1 und HSV-2 nach Patientenprobenart und Altersgruppe, nachgewiesen durch Aptima HSV 1 & 2 Assay in der klinischen Leistungsstudie, findet sich in Tabelle 13.

Tabelle 13: Positive Ergebnisse des Aptima HSV 1 & 2 Assay nach Kategorie der Läsionsstelle und Altersgruppe¹

Läsionsstelle Altersgruppe	% Prävalenz (Anz. positiv / Anz. getestet)			
	VTM-Probe		Aptima Multitest Abstrichprobe	
	HSV-1 positiv	HSV-2 positiv	HSV-1 positiv	HSV-2 positiv
Alle Läsionsstellen				
Alle Altersstufen	21,9 (170/778)	33,0 (257/778)	26,0 (203/782)	35,3 (276/782)
< 2 Jahre	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)
2 bis 11 Jahre	30,8 (4/13)	0,0 (0/13)	50,0 (7/14)	0,0 (0/14)
12 bis 21 Jahre	21,5 (23/107)	40,2 (43/107)	24,8 (27/109)	42,2 (46/109)
22 bis 30 Jahre	18,9 (63/334)	36,8 (123/334)	21,4 (72/337)	39,5 (133/337)
31 bis 40 Jahre	20,7 (30/145)	33,8 (49/145)	27,3 (39/143)	35,7 (51/143)
41 bis 50 Jahre	22,7 (17/75)	26,7 (20/75)	25,7 (19/74)	28,4 (21/74)
51 bis 60 Jahre	30,9 (21/68)	22,1 (15/68)	37,7 (26/69)	24,6 (17/69)
> 60 Jahre	32,3 (10/31)	22,6 (7/31)	35,5 (11/31)	25,8 (8/31)
Anogenitale Läsionen				
Alle Altersstufen	13,4 (72/537)	47,5 (255/537)	13,5 (73/539)	50,8 (274/539)
< 2 Jahre	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
2 bis 11 Jahre	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
12 bis 21 Jahre	20,7 (17/82)	52,4 (43/82)	20,2 (17/84)	54,8 (46/84)
22 bis 30 Jahre	14,2 (38/268)	45,5 (122/268)	14,4 (39/270)	48,9 (132/270)
31 bis 40 Jahre	11,5 (12/104)	47,1 (49/104)	12,6 (13/103)	49,5 (51/103)
41 bis 50 Jahre	9,1 (4/44)	45,5 (20/44)	4,8 (2/42)	50,0 (21/42)
51 bis 60 Jahre	3,7 (1/27)	51,9 (14/27)	7,1 (2/28)	57,1 (16/28)
> 60 Jahre	0,0 (0/10)	70,0 (7/10)	0,0 (0/10)	80,0 (8/10)
Orale Läsionen				
Alle Altersstufen	40,7 (98/241)	0,8 (2/241)	53,5 (130/243)	0,8 (2/243)
< 2 Jahre	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)
2 bis 11 Jahre	33,3 (4/12)	0,0 (0/12)	53,8 (7/13)	0,0 (0/13)
12 bis 21 Jahre	24,0 (6/25)	0,0 (0/25)	40,0 (10/25)	0,0 (0/25)
22 bis 30 Jahre	37,9 (25/66)	1,5 (1/66)	49,3 (33/67)	1,5 (1/67)
31 bis 40 Jahre	43,9 (18/41)	0,0 (0/41)	65,0 (26/40)	0,0 (0/40)
41 bis 50 Jahre	41,9 (13/31)	0,0 (0/31)	53,1 (17/32)	0,0 (0/32)
51 bis 60 Jahre	48,8 (20/41)	2,4 (1/41)	58,5 (24/41)	2,4 (1/41)
> 60 Jahre	47,6 (10/21)	0,0 (0/21)	52,4 (11/21)	0,0 (0/21)

¹Keine Probanden zeigten positive Aptima HSV 1 & 2 Assay-Ergebnisse für beides, HSV-1 und HSV-2.

Positive und negative prädiktive Werte für hypothetische Prävalenzquoten

Die geschätzten positiven und negativen prädiktiven Werte (PPV und NPV) des Aptima HSV 1 & 2 Assay für den Nachweis von HSV-1 und HSV-2 über verschiedene hypothetische Prävalenzraten werden für jede Probenart in Tabelle 14 angegeben. Diese Berechnungen beruhen auf der geschätzten Gesamtsensitivität und Spezifität für jede Probenart, wie in der klinischen Leistungsstudie bestimmt.

Tabelle 14: Hypothetische PPV und NPV für den Nachweis von HSV-1 und HSV-2 nach Probenart und Kategorie der Läsionsstelle

Probenart	Läsionsstelle	Prävalenz (%)	HSV-1		HSV-2	
			Pos. präd. Wert (PPV)	Neg. präd. Wert (NPV)	Pos. präd. Wert (PPV)	Neg. präd. Wert (NPV)
			(%)	(%)	(%)	(%)
VTM-Probe	Anogenital	1	81,0	99,9	27,9	100
		2	89,6	99,9	43,9	99,9
		5	95,7	99,7	66,9	99,8
		10	97,9	99,3	81,0	99,6
		20	99,1	98,4	90,6	99,2
		30	99,5	97,3	94,3	98,6
		40	99,6	95,8	96,2	97,9
		50	99,8	93,8	97,5	96,9
	Oral	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
Aptima Tupfer STM	Anogenital	1	68,6	99,9	12,1	100
		2	81,5	99,9	21,8	100
		5	91,9	99,7	41,9	99,9
		10	96,0	99,4	60,3	99,8
		20	98,2	98,7	77,4	99,6
		30	98,9	97,8	85,4	99,3
		40	99,3	96,6	90,1	98,9
		50	99,5	94,9	93,2	98,4
	Oral	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		

Aptima Tupfer STM = Aptima Multitest Abstrichprobe, VTM = VTM Probe.

TTime-Verteilung für Positivkontrollen des Aptima HSV 1 & 2 Assay

Die Verteilung der TTime-Werte für die Positivkontrollen des Aptima HSV 1 & 2 Assay aus allen gültigen Aptima HSV 1 & 2 Assay-Durchläufen, die während der klinischen Leistungsstudie durchgeführt wurden, ist in Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 15: Verteilung von TTimes für den Aptima HSV 1 & 2 Assay

Positivkontrollen

Statistik	TTime	
	HSV-1	HSV-2
N	107	107
Mean (Mittelwert)	20,03	22,01
Median	19,8	21,7
SAT	1,198	1,612
VK (%)	6,0	7,3
Minimum	18,1	19,5
Maximum	22,9	26,2

VK = Variationskoeffizient, SAT = Standardabweichung.

Literatur

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; aktuell gültige Fassung.
12. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); aktuell gültige Fassung.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.

Kontaktinformationen und Änderungsprotokoll



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



Adresse des australischen Sponsors:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vinci laan 5
1930 Zaventem
Belgium

Die E-Mail-Adresse und Telefonnummer des länderspezifischen technischen Kundendienstes und des Kundendienstes finden Sie auf www.hologic.com/support.

Schwerwiegende Vorkommnisse im Zusammenhang mit dem Produkt in der Europäischen Union sollten dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, gemeldet werden.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion und die zugehörigen Logos sind Marken oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den USA und/oder anderen Ländern.

Alle anderen Marken, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, gehören dem jeweiligen Eigentümer.

Dieses Produkt kann unter einem oder mehreren US-Patent(en) geschützt sein, zu finden unter www.hologic.com/patents.

©2016-2022 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

AW-23071-801 Rev. 001

2022-10

Änderungsprotokoll	Datum	Beschreibung
AW-23071-Rev. 001	Oktober 2022	<ul style="list-style-type: none"> • Erstellt: APTIMA HSV 1 & 2 Assay IFU AW-23071 Rev. 001 ersetzt AW-15346 Rev. 005. Für die IVDR-Konformität (Außerhalb der USA und/oder USA) sind die Daten robuster und es wurde ein neuer PI-Entwurf erstellt, um die IVDR-Anforderungen zu erfüllen. • Hinzugefügt: Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung • Aktualisiert: Abschnitt zu Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen • Aktualisiert: Abschnitt zu erforderlichen, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltenen Materialien • Aktualisiert: Abschnitt zum Panther System unter dem Testverfahren mit dem Panther System • Entfernt: Frühere Tabelle 13 bis Tabelle 18 und entsprechend neu nummeriert • Kontaktinformationen einschließlich der folgenden aktualisiert: Europäischer Bevollmächtigter, CE-Zeichen, Informationen zum australischen Bevollmächtigten und Technischer Kundendienst • Verschiedene Aktualisierungen von Stil und Formatierung