

cobas[®] HSV 1 and 2 Test

para utilização no cobas[®] 4800 System

Para diagnóstico *in vitro*



cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit	240 Tests	P/N: 05235782190
	960 Tests	P/N: 05235804190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 1	240 Tests	P/N: 06768253190
	960 Tests	P/N: 06768270190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests	P/N: 05235863190
	960 Tests	P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Internal Control Kit 1	20 Runs	P/N: 06768318190
cobas[®] 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit	80 Tests	P/N: 06768199190
cobas[®] 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit	10 Runs	P/N: 06768296190

ÍNDICE

Utilização

Resumo e explicação do teste / Princípio do procedimento

Fundamentos: Rastreio do HSV-1 e HSV-2	4
Explicação do teste	5
Princípios do Procedimento	5
Preparação de amostras	5
Amplificação por PCR e deteção no TaqMan®	5
Amplificação seletiva	6

Materiais, reagentes e amostras

Materiais e reagentes fornecidos	7
Armazenamento e manuseamento de reagentes	14
Materiais adicionais necessários.....	14
Materiais opcionais	15
Equipamentos e software necessários mas não fornecidos	15

Precauções e requisitos de manuseamento

Advertências e precauções	15
Boas práticas laboratoriais	16
Contaminação	16
Integridade	16
Eliminação	17
Derrames e limpeza.....	17
Colheita, transporte e armazenamento de amostras	17
Colheita de amostras.....	17
Armazenamento e estabilidade das amostras durante o transporte	17

Instruções de utilização

Execução do teste.....	18
Fluxo de trabalho.....	18
Procedimento de teste	18

Resultados

Controlo de qualidade e validade dos resultados.....	23
Controlo positivo	23
Controlo negativo.....	23
Controlo interno	23
Interpretação dos resultados.....	23
Lista de alarmes de resultados	25
Limitações do procedimento	25

Avaliação do desempenho não clínico	26
Sensibilidade analítica.....	26
Detecção de estirpes do HSV-1 e HSV-2.....	27
Precisão	27
Inibição competitiva	28
Especificidade analítica.....	29
Interferência.....	30
Desempenho clínico com amostras clínicas	32
Informações adicionais.....	34
Características principais do ensaio.....	34
Símbolos	35
Apoio técnico	36
Fabricante e importador.....	36
Marcas comerciais e patentes	36
Direitos de autor.....	36
Bibliografia	37
Informações de revisão do documento	38

Utilização

O teste **cobas**® HSV 1 e 2 no **cobas**® 4800 System é um teste automatizado, qualitativo, de diagnóstico *in vitro*, que utiliza reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, para a detecção direta e tipagem do ADN do vírus do herpes simples 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2) em amostras colhidas pelo médico de feridas anogenitais de doentes sintomáticos do sexo masculino e feminino. O teste **cobas**® HSV 1 e 2 destina-se a ser utilizado como um auxiliar no diagnóstico de infeções anogenitais pelo HSV-1 e pelo HSV-2 em doentes sintomáticos.

Resumo e explicação do teste / Princípio do procedimento

Fundamentos: Rastreio do HSV-1 e HSV-2

O herpes genital é uma doença sexualmente transmissível (DST) causada pelo HSV-1 e pelo HSV-2, que são vírus obíquos com ADN neurotrópico de dupla cadeia da família Herpesviridae.¹ A seguir a uma infeção primária através de secreções, o vírus persiste para o resto da vida. O vírus poderá permanecer latente durante um longo período de tempo ou causar episódios recorrentes de doença sintomática reativada; o número de recorrências tende a diminuir com o passar dos anos. A maioria dos herpes genitais são causados pelo HSV-2. O HSV-1 também pode causar herpes genital, mas mais frequentemente causa infeções na boca e nos lábios. A transmissão do herpes genital é frequentemente causada por indivíduos que não sabem que estão infetados, ou os que têm infeções assintomáticas.² A transmissão pré-natal ou perinatal do HSV para o recém-nascido poderá causar doença grave ou mesmo a morte.

A infeção por herpes genital é frequente nos Estados Unidos, onde foi observada uma seroprevalência do HSV-2 de até 30% em mulheres grávidas e que poderá ser superior a 50% em grupos de alto risco, incluindo indivíduos infetados com o HIV e trabalhadores do sexo.² Foi observada uma seroprevalência do HSV-2 de até 80% em adultos³; a seroprevalência em mulheres é até duas vezes mais elevada do que nos homens e aumenta com a idade.^{4,5}

Os sinais e sintomas associados ao herpes genital poderão variar e, num número significativo⁶ de indivíduos infetados, a infeção permanece assintomática ou não diagnosticada. Normalmente, 4 a 7 dias após contacto sexual, começa a ocorrer dor ou formigueiro local, seguido de aglomerados bilaterais de vesículas eritematosas e vesículas na genitália externa²; também podem surgir feridas na região perianal. Febre, dores de cabeça, indisposição e linfadenopatia inguinal poderão estar presentes ao mesmo tempo. A infeção primária com HSV-1 não pode ser distinguida da infeção primária com HSV-2 com base em critérios clínicos. Cerca de 70% a 90% das pessoas com HSV-2 sintomático e cerca de 20% a 50% das pessoas com infeção genital por HSV-1 irão desenvolver uma recorrência no decorrer do primeiro ano.⁷⁻⁹ Por conseguinte, o diagnóstico definitivo da infeção e a tipagem do vírus é importante para a iniciação do tratamento e a gestão posterior de doentes.¹⁰

O diagnóstico do herpes genital pode ser estabelecido testando uma zaragatoa com amostra retirada de feridas anogenitais, utilizando cultura seguida de imunofluorescência específica do tipo, ou técnicas moleculares. Os ensaios baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) combinam uma maior sensibilidade e um menor tempo para obter o resultado do teste, quando comparado com uma cultura.^{11,12} Para o diagnóstico de infeções latentes do HSV, são utilizados testes para detetar anticorpos. Uma administração rápida de terapia antiviral nos indivíduos infetados ajudará a minimizar a transmissão do HSV e as complicações decorrentes da infeção por HSV.

O teste **cobas**® HSV 1 e 2 processa zaragatoas com amostras de feridas anogenitais colhidas com o kit de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab. Estas amostras primárias são colocadas no **cobas**® 4800 System, tendo lugar o processo automatizado de extração de ácidos nucleicos e preparação da reação PCR. O subsequente processo de PCR em tempo real deteta e tipifica o ADN alvo específico do HSV-1 e HSV-2 na amostra, se presente. O teste pode ser executado numa corrida mista com os testes **cobas**® Cdiff e **cobas**® MRSA/SA. Os três testes partilham o mesmo processo automatizado de extração de amostras, assim como o perfil PCR de amplificação e deteção.

Explicação do teste

O teste **cobas**® HSV-1 e 2 contém dois processos principais: (1) preparação automatizada de amostras para extrair ácidos nucleicos de amostras de feridas anogenitais; (2) realização simultânea de amplificação por PCR de sequências do ADN alvo utilizando iniciadores específicos do HSV-1 e HSV-2 e deteção em tempo real das sondas de deteção oligonucleotídicas específicas do HSV-1 e HSV-2 marcadas com corante fluorescente e clivadas. Antes da preparação automatizada de amostras, é adicionado a todas as amostras um Controlo Interno contendo uma sequência aleatória não relacionada de ADN, e é amplificado e detetado simultaneamente com cada amostra para monitorizar o processo inteiro.

Princípios do Procedimento

Preparação de amostras

A preparação de amostras para o teste **cobas**® HSV 1 e 2 é automatizada com a utilização do equipamento **cobas**® x 480. Os vírus nas amostras de feridas anogenitais são lisados com agente caotrópico, proteinase K e reagentes SDS. Os ácidos nucleicos libertados, juntamente com o ADN do Controlo Interno adicionado, são ligados por partículas magnéticas de vidro. São lavados e depois eluídos num pequeno volume de tampão. O equipamento retira então uma alíquota do material eluído e prepara a reação PCR com uma Mistura Principal ativada.

Amplificação por PCR e deteção no TaqMan®

Os passos PCR de amplificação e deteção do sinal do alvo ocorrem no analisador **cobas**® z 480. O reagente de Mistura Principal contém pares de iniciadores e sondas para cinco alvos: a região B da polimerase do ADN e a região C da timidina quinase do HSV-1; a região final da glicoproteína B 3' e a região C da timidina quinase do HSV-2, e o Controlo Interno. O design de alvo duplo para o HSV-1 e o HSV-2 aumenta a robustez do ensaio. Se estiverem presentes as sequências de ácido nucleico alvo, a amplificação com os iniciadores correspondentes ocorrerá através de uma polimerase do ADN termoestável, gerando produtos da PCR (amplicons). Estes produtos são detetados por sondas TaqMan específicas contendo um corante fluorescente e um supressor. Geralmente o supressor suprime a fluorescência do corante. No entanto, se o produto da PCR estiver presente, a sonda hibridiza-se com o produto e é clivada pela atividade da nuclease 5' a 3' da polimerase. Esta reação permite que seja emitida fluorescência do corante, e o sinal é registado em tempo real durante cada ciclo da PCR pelo analisador **cobas**® z 480. O sinal é interpretado pelo software do **cobas**® 4800 System e reportado como resultado final.

Amplificação seletiva

No teste **cobas**® HSV 1 e 2 a amplificação seletiva do ácido nucleico alvo da amostra é conseguida com a utilização de uma enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) e de trifosfato de deoxiuridina (dUTP). A enzima AmpErase reconhece e catalisa a destruição de cadeias de ADN que contêm desoxiuridina¹³, mas não o ADN que contêm desoxitimidina. A desoxiuridina não se encontra no ADN natural, mas está sempre presente no amplicon, devido ao uso de trifosfato de desoxiuridina em vez de trifosfato de timidina como um dos dNTPs no reagente de Mistura Principal; por conseguinte, somente o amplicon contém desoxiuridina. A desoxiuridina torna o amplicon contaminante suscetível à destruição pela enzima AmpErase antes da amplificação do ADN alvo. A enzima AmpErase, que está incluída no reagente de Mistura Principal, catalisa a clivagem de ADN contendo desoxiuridina em resíduos de desoxiuridina, ao abrir a cadeia de desoxiribose na posição C1. Quando aquecida no primeiro passo de amplificação térmica, no pH alcalino da Mistura Principal, a cadeia de ADN do amplicon quebra-se na posição da desoxiuridina, tornando assim o ADN não amplificável. A enzima AmpErase é inativa a temperaturas acima dos 55 °C, ou seja, durante os passos de amplificação térmica, pelo que não destrói o amplicon alvo. O teste **cobas**® HSV 1 e 2 demonstrou inativar pelo menos 1000 cópias de amplicon de HSV 1 e 2 contendo desoxiuridina, por PCR.

Materiais, reagentes e amostras

Materiais e reagentes fornecidos

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 240 testes (P/N: 05235782190)	MGP (Partículas Magnéticas de Vidro do cobas® 4800 System) Partículas Magnéticas de Vidro 93% de isopropanol**	10 × 4,5 ml	 PERIGO H225 Líquido e vapor facilmente inflamáveis. H319 Provoca irritação ocular grave. H336 Pode provocar sonolência ou vertigens. P210 Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar. P233 Manter o recipiente bem fechado. P261 Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. P303 + P361 + P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P370 + P378 Em caso de incêndio: para extinguir, utilizar areia seca, pó químico ou espuma resistente a álcool. 67-63-0 Propano-2-ol
	EB (Tampão de Eluição do cobas® 4800 System) Tampão Tris 0,09% de azida sódica	10 × 18 ml	N/A

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 960 testes (P/N: 05235804190)	MGP (Partículas Magnéticas de Vidro do cobas® 4800 System) Partículas Magnéticas de Vidro 93% de isopropanol**	10 × 13,5 ml	 PERIGO H225 Líquido e vapor facilmente inflamáveis. H319 Provoca irritação ocular grave. H336 Pode provocar sonolência ou vertigens. P210 Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar. P233 Manter o recipiente bem fechado. P261 Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. P303 + P361 + P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P370 + P378 Em caso de incêndio: para extinguir, utilizar areia seca, pó químico ou espuma resistente a álcool. 67-63-0 Propano-2-ol
	EB (Tampão de Eluição do cobas® 4800 System) Tampão Tris 0,09% de azida sódica	10 × 18 ml	N/A

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 testes (P/N: 06768253190)	LYS-1 (Tampão de Lise 1 do cobas® 4800 System) Citrato de sódio 5% de Polidocanol** 42,6% de Tiocianato de guanidina** Ditiotreitól**	10 × 10 ml	 PERIGO H302: Nocivo por ingestão. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P305 + P351 + P338 + P310: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P391: Recolher o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 testes (P/N: 06768253190)	PK (Proteinase K do cobas® 4800 System) Tampão Tris EDTA Cloreto de cálcio Acetato de cálcio < 2,0% de proteinase K** Glicerina	10 × 0,9 ml	 PERIGO H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. P261: Evitar respirar as névoas ou vapores. P280: Usar luvas de proteção. P284: Usar proteção respiratória. P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P342 + P311: Em caso de sintomas respiratórios: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serine
	SDS (Reagente SDS do cobas® 4800 System) Tampão Tris Dodecil sulfato de sódio 0,09% de azida sódica	10 × 3 ml	N/A

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 testes (P/N: 06768270190)	LYS-1 (Tampão de Lise 1 do cobas® 4800 System) Citrato de sódio 5% de Polidocanol** 42,6% de Tiocianato de guanidina** Ditiotreitól**	10 × 36 ml	 PERIGO H302: Nocivo por ingestão. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P305 + P351 + P338 + P310: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P391: Recolher o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 testes (P/N: 06768270190)	PK (Proteinase K do cobas® 4800 System) Tampão Tris EDTA Cloreto de cálcio Acetato de cálcio < 2,0% de proteinase K** Glicerina	20 × 1,2 ml	 PERIGO H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. P261: Evitar respirar as névoas ou vapores. P280: Usar luvas de proteção. P284: Usar proteção respiratória. P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P342 + P311: Em caso de sintomas respiratórios: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serine
	SDS (Reagente SDS do cobas® 4800 System) Tampão Tris Dodecil sulfato de sódio 0,09% de azida sódica	10 × 9 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 testes (P/N: 05235863190)	WB (Tampão de Lavagem do cobas® 4800 System) Citrato de sódio desidratado 0,05% de N-Metilisotiazolona-HCl	10 × 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 testes (P/N: 05235871190)	WB (Tampão de Lavagem do cobas® 4800 System) Citrato de sódio desidratado 0,05% de N-Metilisotiazolona-HCl	10 × 200 ml	N/A
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 20 corridas (P/N: 06768318190)	IC-1 (IC-1 do cobas® 4800) Tampão Tris EDTA < 0,01% de ARN de Poli rA (sintético) 0,05% de azida de sódio < 0,01% de ADN não infeccioso e sintético do controlo interno, encapsulado em proteína coberta de bacteriófago Lambda	20 × 0,5 ml	N/A

Kit/Cassetes	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit 80 testes (P/N: 06768199190)	HSV MMX (Mistura Principal cobas® HSV 1 e 2) Tampão de tricina EDTA Acetato de potássio Hidróxido de potássio Tween 20 Glicerol < 0,19% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% de iniciadores do HSV-1, HSV-2 e do controlo interno a jusante e a montante < 0,01% de sondas do HSV-1, HSV-2 e do controlo interno de marcação fluorescente < 0,01% de aptâmero oligonucleotídico < 0,01% de polimerase do ADN Z05 (de origem microbiana) < 0,02% de enzima de AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana) 0,09% de azida sódica	10 × 0,3 ml	N/A
	HSV (+) C (Controlo positivo cobas® HSV 1 e 2) Tampão Tris EDTA < 0,01% de ARN de Poli rA (sintético) 0,05% de azida sódica < 0,01% de ADN de plasmídeo não infeccioso (de origem microbiana) contendo sequência de HSV 1 < 0,01% de ADN de plasmídeo não infeccioso (de origem microbiana) contendo sequência de HSV 2	10 × 0,5 ml	N/A
	(-)C (Controlo negativo do cobas® 4800 System) Tampão Tris EDTA 0,05% de azida sódica < 0,01% de ARN de Poli rA (sintético)	10 × 0,5 ml	N/A
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit (Kit de Controlos e Co-factor cobas® 4800 HSV 1 e 2) 10 corridas (P/N: 06768296190)	Cofactor-2 (Co-factor 2 do cobas® 4800) Acetato de manganês Acetato de magnésio 0,09% de azida sódica	10 × 1,7 ml	N/A

* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

** Substância perigosa

Armazenamento e manuseamento de reagentes

Reagente	Temperatura de armazenamento	Tempo de armazenamento
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit de Preparação de Amostras do cobas® 4800 System)	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Kit de Lise 1 do cobas® 4800 System)	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Kit de Controlo Interno 1 do cobas® 4800 System)	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit (Kit de Amplificação/Deteção cobas® 4800 HSV 1 e 2)	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit (Kit de Controlos e Co-factor cobas® 4800 HSV 1 e 2)	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit de Tampão de Lavagem do cobas® 4800 System)	15 a 25 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado

Nota: Não congelar os reagentes.

A data de validade do reagente baseia-se no Tempo Universal Coordenado (UTC). A hora local do prazo de validade do reagente pode ser ajustada para mais ou menos 12 horas, consoante o fuso horário local em relação ao UTC.

Materiais adicionais necessários

Materiais	P/N
Pontas CORE, 1000 µl, rack de 96	04639642001
Reservatório de reagente de 50 ml	05232732001
Reservatório de reagente de 200 ml	05232759001
Placa de extração (poços fundos) do cobas® 4800 System	05232716001
Placa AD (microplaca) de 0,3 ml e Película vedante do cobas® 4800 System	05232724001
Aplicador de película vedante	04900383001
Suporte de 32 posições	04639529001
Saco de desperdícios sólidos	05530873001 (pequeno) ou 04691989001 (grande)
Manga de Plástico Hamilton STAR	04639669001
Sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab	7007248190 ou COPAN 404C.R
Luvras descartáveis, sem pó	São aceitáveis quaisquer luvas descartáveis sem pó.
Misturador de agitação forte (tubo único)	É aceitável qualquer misturador de agitação forte.

Para mais informações relativamente a materiais vendidos em separado, contacte o representante local da Roche.

Materiais opcionais

Materiais	P/N
Tampa de placa de poços fundos	Hamilton 6474-01
Tampas, cor branca (para tapar os tubos primários após execução de amostras)	07033893001 ou COPAN 2U008N100.R

Para mais informações relativamente a materiais opcionais, contacte o representante local da Roche.

Equipamentos e software necessários mas não fornecidos

Equipamentos e software necessários, não fornecidos
cobas® 4800 System Equipamento cobas® x 480 Analisador cobas® z 480 Unidade de controlo
Software de AP cobas® HSV 1 e 2 do cobas® 4800 System , versão 1.0.0 ou superior
Software de Aplicação (Core) do cobas® 4800 System , versão 2.2.0 ou superior

Para mais informações relativamente a materiais vendidos em separado, contacte o representante local da Roche.

Precauções e requisitos de manuseamento

Advertências e precauções

À semelhança do que sucede com qualquer procedimento de teste, boas práticas laboratoriais são essenciais para um desempenho adequado deste ensaio. Em virtude da elevada sensibilidade analítica deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes, as amostras e as misturas de amplificação isentas de contaminação.

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- Evitar a contaminação dos reagentes e amostras por micróbios e ADN.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (SDS, Safety Data Sheets) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.
- O reagente LYS-1 contém tiocianato de guanidina. Não permita o contacto direto entre o tiocianato de guanidina e o hipoclorito de sódio (lixívia) ou outros reagentes altamente reativos tais como ácidos ou bases. Essas misturas podem libertar gases nocivos.
- O MGP contém isopropanol e é facilmente inflamável. Manter afastado de chamas e ambientes propícios à produção de faíscas.
- Os EB, HSV 1 e 2 MMX, SDS, Cofactor-2, (-)C, HSV 1 e 2 (+)C e IC-1 contêm azida sódica.
- Para outras advertências, precauções e procedimentos para reduzir o risco de contaminação no **cobas® x 480** instrument ou no **cobas® z 480 analyzer**, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas® 4800 System**. Se houver suspeita de contaminação, efetue a limpeza e a manutenção semanal, conforme descrito na Assistência ao utilizador do **cobas® 4800 System**.

- Informe as autoridades competentes locais sobre qualquer incidente grave que possa ocorrer ao utilizar este ensaio.

Nota: Para instruções específicas, consulte “Colheita, transporte e armazenamento de amostras”.

Boas práticas laboratoriais

- Não efetue pipetagem com a boca.
- Não comer, beber ou fumar em áreas de trabalho laboratorial.
- Lave muito bem as mãos depois de manusear amostras e reagentes do kit.
- Ao manusear quaisquer reagentes, usar sempre proteção para os olhos, bata de laboratório e luvas descartáveis. Evitar o contacto destes materiais com a pele, olhos ou membranas mucosas. Se ocorrer contacto, lavar imediatamente com água em abundância. Caso não seja efetuado tratamento, podem surgir queimaduras. Se ocorrer derrame, diluir com água antes de secar.
- Limpe e desinfete cuidadosamente todas as superfícies de trabalho do laboratório com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de sódio a 0,5% em água desionizada ou destilada (diluir lixívia doméstica a 1:10). Em seguida esfregue a superfície com um pano com etanol a 70%.

Contaminação

- Para evitar contaminação, devem ser usadas luvas que devem ser trocadas entre o manuseamento de amostras e de reagentes do teste **cobas**® HSV 1 e 2. Evite contaminar as luvas quando manusear amostras e controlos. Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes do kit.
- Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se o carryover de amostras não for impedido durante a manipulação das amostras.
- As amostras deverão ser manuseadas como se fossem infecciosas, utilizando procedimentos de laboratório seguros, tais como os descritos em *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁴ e no Documento M29-A3 do CLSI.¹⁵

Integridade

- Não utilizar kits fora dos prazos de validade.
- Não misturar reagentes.
- Não utilizar produtos descartáveis que tiverem ultrapassado o respetivo prazo de validade.
- Todos os itens descartáveis são para uma única utilização. Não reutilizar.
- Todos os equipamentos devem ser mantidos adequadamente, de acordo com as instruções do fabricante
- Não utilizar reagentes ou contentores que estão visivelmente danificados ou mostrem sinais de fuga.

Eliminação

- Os reagentes **cobas**® 4800 e os reagentes específicos do teste **cobas**® HSV 1 e 2 contêm azida sódica (consultar “Advertências e precauções”). A azida sódica pode reagir com tubagens de chumbo e de cobre, produzindo azidas metálicas altamente explosivas. Quando eliminar soluções contendo azida sódica nos lavatórios do laboratório, lave os canos com um grande volume de água fria para impedir a formação de azidas.
- Eliminar os reagentes não utilizados e os desperdícios em conformidade com as regulamentações nacionais e locais.

Nota: *Para a eliminação de resíduos líquidos, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.*

Derrames e limpeza

- O reagente LYS-1 contém tiocianato de guanidina. Caso ocorra derramamento de líquido que contenha tiocianato de guanidina, limpar com detergente laboratorial adequado e água. Se o líquido derramado contiver agentes potencialmente infecciosos, limpar PRIMEIRO a área afetada com detergente laboratorial e água e em seguida com hipoclorito de sódio a 0,5%.
- Se o derramamento ocorrer no **cobas**® 4800 instrument, siga as instruções de limpeza apresentadas na Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.
- Não utilize solução de hipoclorito de sódio (lixívia) para a limpeza do **cobas**® x 480 instrument ou do **cobas**® z 480 analyzer. Limpe o **cobas**® x 480 instrument ou o **cobas**® z 480 analyzer de acordo com os procedimentos descritos na Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.

Colheita, transporte e armazenamento de amostras

Nota: *Manusear todas as amostras tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infecciosos.*

Colheita de amostras

Foram validadas para utilização com o teste **cobas**® HSV 1 e 2, zaragatoas com amostras de feridas anogenitais colhidas com o sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab. As amostras deverão ser colhidas seguindo o procedimento descrito na secção “Procedimento de colheita de amostras” e de acordo com os procedimentos operacionais padrão da sua instituição.

Armazenamento e estabilidade das amostras durante o transporte

As zaragatoas com amostras de feridas anogenitais colhidas com o sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab mantêm-se estáveis para transporte e armazenamento entre 2 e 30 °C durante 4 dias, ou entre 2 e 8 °C durante 14 dias, e congeladas durante pelo menos 30 dias antes de serem testadas no **cobas**® 4800 System (isto foi demonstrado testando amostras depois de vários armazenamentos consecutivos a 31 ± 1 °C durante 4 dias, seguido de armazenamento entre 2 e 8 °C durante 14 dias, seguido de armazenamento a -20 °C durante 30 dias).

O transporte de amostras HSV 1 e 2 deve obedecer às regulamentações nacionais, federais, estaduais e locais relativas ao transporte de agentes etiológicos.

Instruções de utilização

Execução do teste

Fluxo de trabalho

Figura 1: Fluxo de trabalho do cobas® HSV 1 e 2

1	Iniciar o sistema.
2	Executar a manutenção do equipamento.
3	Retirar as amostras e os reagentes do armazenamento.
4	Iniciar corrida: • Carregar racks com amostras.
5	Com LIS: confirmar ordem de trabalho Sem LIS: criar ordem de trabalho
6	Carregar consumíveis (placa de poços fundos, microplaca, racks de pontas) e reagentes
7	Iniciar corrida de preparação de amostras
8	Descarregar e selar microplaca
9	Retirar amostras, reagentes usados e placa de poços fundos.
10	Carregar microplaca no analisador
11	Examinar resultados
12	Com LIS: enviar resultados para o LIS
13	Descarregar analisador

Procedimento de teste

Procedimento de colheita de amostras

Para obter ótimos resultados é extremamente importante efetuar a colheita adequadamente. Indicações específicas sobre colheita de amostras e detecção de vírus encontram-se em manuais de referência publicados (CLSI M41-A).¹⁷

Para obter ótimos resultados, as amostras para o teste **cobas® HSV 1 e 2** deverão ser colhidas na fase aguda da doença sempre que possível, de preferência dentro de 3 dias e menos de 7 dias após o aparecimento da doença (erupção de feridas).

As amostras deverão ser colhidas de acordo com os procedimentos operacionais standard da sua instituição e/ou os seguintes:

- A. Vesículas presentes (bolhas cheias de fluido claro)
 1. Lave/limpe a superfície da ferida com soro fisiológico.
 2. Remova cuidadosamente a capa da vesícula (rompa) com uma zaragatoa FLOQSwab (preferencialmente), uma agulha ou um bisturi e colha o fluido com a zaragatoa FLOQSwab.
 3. Com a mesma FLOQSwab, esfregue vigorosamente a base da vesícula para colher células da base da ferida.
 4. Transfira a zaragatoa para o respetivo tubo de transporte com meio MSwab. Encoste a haste da zaragatoa contra a borda do tubo e pressione para a partir pelo ponto pré-pontado.

5. Feche a tampa firmemente enquanto se assegura de que a extremidade superior da haste da zaragatoa se encontra no centro da tampa.

B. Vesículas ausentes (rompidas, vesícula gotejante ou úlcera com crosta)

1. Se crosta ausente (vesícula rompida e/ou gotejante)
 - a. Utilizando uma zaragatoa FLOQSwab seca ou pré-humedecida com duas gotas de soro fisiológico esterilizado, colha células esfregando vigorosamente a base da ferida.
 - b. Transfira a zaragatoa para o tubo de transporte com meio MSwab. Encoste a haste da zaragatoa contra a borda do tubo e pressione para a partir pelo ponto pré-pontado.
 - c. Feche a tampa firmemente enquanto se assegura de que a extremidade superior da haste da zaragatoa se encontra no centro da tampa.
2. Se a ferida tem crosta (úlceras com crosta)
 - a. Remova cuidadosamente a crosta utilizando uma zaragatoa FLOQSwab pré-humedecida com soro fisiológico.
 - b. Colha a amostra esfregando vigorosamente a base da ferida.
 - c. Alternativamente, raspe cuidadosamente a ferida com um bisturi ou agulha esterilizados, até que surja fluido seroso (evitar sangrar) e colha a amostra com uma zaragatoa FLOQSwab pré-humedecida, esfregando vigorosamente a base da vesícula.
 - d. Transfira a zaragatoa para o tubo de transporte com meio MSwab. Encoste a haste da zaragatoa contra a borda do tubo e pressione para a partir pelo ponto pré-pontado.

Rotule a amostra e transporte-a para o laboratório, de acordo com os procedimentos operacionais padrão da sua instituição (consulte a secção “Colheita, transporte e armazenamento de amostras”). Consulte a secção “Fluxo de trabalho” para notas sobre amostras.

Todos os reagentes exceto a mistura principal HSV 1 e 2 MMX e Cofactor-2 devem estar à temperatura ambiente antes de serem carregados no equipamento **cobas**® x 480. Os reagentes HSV 1 e 2 MMX e Cofactor-2 podem ser retirados diretamente do armazenamento entre 2 e 8 °C, porque na altura que forem usados no processo a bordo do equipamento **cobas**® x 480, já estarão à temperatura ambiente.

Nota: *Para instruções de operação detalhadas, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.*

Tamanho da corrida

O **cobas**® 4800 System foi concebido para fazer corridas mistas de testes **cobas**® HSV 1 e 2, **cobas**® Cdiff e **cobas**® MRSA/SA. O kit genérico de Preparação de Amostras do **cobas**® 4800 System, o kit genérico de Lise 1 do **cobas**® 4800 System e o kit genérico de Tampão de Lavagem do **cobas**® 4800 System estão disponíveis em dois tamanhos de kit, cada um suficiente para 10 corridas de até 24 ou até 96 amostras, incluindo os controlos e amostras para todos os ensaios a executar. O kit de Amplificação/Deteção **cobas**® 4800 HSV 1 e 2 está disponível em dois tamanhos, cada um suficiente para testar 80 ou 240 amostras, incluindo os controlos e amostras HSV 1 e 2 a executar. Podem ser utilizados vários frascos de reagente de Mistura Principal do **cobas**® 4800 HSV 1 e 2, conforme for apropriado numa corrida, desde que tenham o mesmo tamanho de kit. O kit genérico de Controlo Interno 1 do **cobas**® 4800 System e o kit de Controlos e Co-factor **cobas**® 4800 HSV 1 e 2 estão disponíveis num único tamanho de kit, que é suficiente para 20 e 10 corridas respetivamente, e podem suportar todas as configurações de corridas. Para cada corrida contendo amostras HSV 1 e 2, tem de ser executado um Controlo Positivo **cobas**® 4800 HSV 1 e 2 e um Controlo Negativo do **cobas**® 4800 System (consultar “Controlo de Qualidade”). Para uma única corrida de teste, o número máximo permitido de amostras é 94 amostras e 2 controlos.

Nota: Embora não tenha um uso ideal de reagentes, um reagente genérico para 96 testes pode ser utilizado para uma corrida contendo 1 a 22 amostras. No entanto, não podem ser misturados tamanhos diferentes do kit de Tampão de Lavagem do cobas® 4800 System, do kit de Preparação de Amostras do cobas® 4800 System e do kit de Lise 1 do cobas® 4800 System. Por exemplo, se no início da corrida for registado um frasco de reagente de Tampão de Lavagem para 96 testes, devem ser usados também reagentes para 96 testes dos outros dois kits.

Nota: Embora não tenha um uso ideal de reagentes, um reagente cobas® 4800 HSV 1 e 2 MMX para 24 testes pode ser utilizado numa corrida que contenha 1 a 6 amostras HSV. Para detalhes sobre como alterar o tamanho do kit, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

Fluxo de trabalho

O teste cobas® HSV 1 e 2 é executado utilizando o fluxo de trabalho “Full workflow” (fluxo de trabalho Completo) no software cobas® 4800. Este fluxo de trabalho consiste na preparação de amostra no cobas® x 480 instrument, seguida de amplificação/detecção no cobas® z 480 analyzer. A corrida pode ser só de HSV 1 e 2, ou pode ser misturada com o teste cobas® Cdiff e/ou teste cobas® MRSA/SA. Para obter detalhes, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

Amostras

Nota: O teste cobas® HSV 1 e 2 foi validado para ser utilizado com o sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab. Não utilize outros dispositivos de colheita de zaragatoas ou outros tipos de meios.

Nota: Uma zaragatoa com amostra de ferida anogenital colhida adequadamente deverá ter uma única zaragatoa FLOQ com a haste fixa pela tampa. As amostras sem zaragatoa ou com mais de uma zaragatoa não foram colhidas de acordo com as instruções e não devem ser testadas.

Nota: Não processe zaragatoas com amostras de feridas anogenitais que aparentem ter sangue ou que tenham uma cor castanha escura.

Nota: As amostras devem estar nos tubos de amostra primários com o código de barras apropriado, para processamento no equipamento cobas® x 480. Consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System para os procedimentos de colocação apropriada de códigos de barras e para a lista de códigos de barras que são aceites pelo cobas® 4800 System.

Nota: Para evitar contaminação cruzada, recomenda-se que os tubos primários sejam processados no cobas® 4800 System antes de terem sido utilizados noutros processamentos ou testes.

Nota: Para evitar contaminação cruzada de amostras processadas, deverão ser utilizadas novas tampas de cor diferente (branca; ver “Materiais opcionais”) para tapar os tubos de amostras em meio MSwab após o processamento.

Nota: As zaragatoas com amostras de feridas anogenitais colhidas com o sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab contêm volume suficiente para serem analisadas duas vezes no cobas® 4800 System. O volume de amostra mínimo para efetuar uma corrida cobas® HSV 1 e 2 é de 700 µl no tubo primário de amostra em meio MSwab.

Executar o teste cobas® HSV 1 e 2

Nota: *Podem ser executadas corridas mistas entre o teste cobas® HSV 1 e 2 e o teste cobas® Cdiff e/ou o teste cobas® MRSA/SA. Para mais informações, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.*

1. Efetue o arranque do sistema e os procedimentos de manutenção, seguindo as instruções da Assistência ao utilizador do **cobas® 4800 System**.
2. Reúna todos os reagentes e consumíveis necessários. Os reagentes devem estar à temperatura ambiente na altura em que a corrida é iniciada, à exceção dos reagentes **cobas® HSV 1 e 2 MMX** e Cofactor-2.

Nota: *Todos os reagentes e reservatórios de reagentes têm códigos de barras e foram concebidos para serem utilizados uma só vez. O software cobas® 4800 deteta a utilização dos reagentes e dos reservatórios de reagentes e rejeita os reagentes ou reservatórios de reagentes utilizados anteriormente.*

3. Verifique o aspeto das zaragatoas com amostras de feridas anogenitais colhidas em meio MSwab para se certificar de que satisfazem os requisitos indicados na secção “Amostras”. Certifique-se de que todas as tampas estão firmemente colocadas. Misture a amostra com agitação forte durante um mínimo de 5 segundos. Abra o tubo (a parte superior da zaragatoa deverá estar presa pela tampa) e faça girar a zaragatoa contra o interior da parede do tubo para drenar o excesso de líquido. Desfaça-se da tampa com a zaragatoa imediatamente antes do carregamento no **cobas® 4800 System**. Certifique-se de que a zaragatoa é retirada com a tampa. Uma zaragatoa deixada no frasco da amostra interfere com o teste **cobas® HSV 1 e 2**.
4. Inicie uma nova corrida definindo a ordem de trabalho da corrida. Existem três maneiras de criar uma ordem de trabalho:
 - Utilizando o editor de amostras antes de carregar a rack de amostras no equipamento **cobas® x 480** (botão “Editor” à direita do menu principal). As ordens de trabalho podem ser guardadas, editadas e recarregadas, se necessário.
 - Seguindo o assistente do software para a nova corrida e carregando as amostras no equipamento **cobas® x 480** quando o sistema solicitar. Os códigos de barras das amostras serão automaticamente lidos e são registados os testes pretendidos para cada amostra.
 - Utilizando o sistema LIS da sua instituição.

Para mais detalhes, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas® 4800 System**. Quando seleccionar os resultados pretendidos, marque “HSV 1 e 2”.

5. Carregue amostras e defina/selecione a ordem de trabalho ou utilize o LIS, conforme apropriado. A opção “Unload sample carriers after transferring to deep well plate” está selecionada por predefinição. Isto permite ao operador retirar as amostras o mais rapidamente possível, depois de terem sido divididas em alíquotas para processamento pelo equipamento **cobas® x 480**. Os tubos de amostra devem ser tapados com novas tampas (ver “Materiais opcionais”), caso seja necessário armazená-los.
6. Siga as indicações do assistente do software para carregar consumíveis. Não coloque ou retire pontas individuais de uma rack de pontas parcialmente usada, uma vez que o software regista o número de pontas que sobra. Se não houver pontas suficientes para executar a corrida, o software alerta o utilizador.

7. Carregue os reagentes de preparação de amostras nos reservatórios de reagentes com códigos de barras. Os reservatórios de reagentes estão disponíveis em dois tamanhos: 200 ml e 50 ml. Siga as indicações do assistente do software para selecionar o tamanho correto do reservatório de reagente. Os códigos de barras dos reservatórios de reagentes devem estar virados para a direita do suporte. Utilize o método “ler-ler-verter-colocar” para carregar os reagentes de preparação de amostras:
- Faça a leitura do código de barras do frasco de reagente
 - Faça a leitura do código de barras do reservatório de reagente
 - Verta o reagente no reservatório
 - Coloque o reservatório de reagente cheio no suporte de reagentes na posição designada.

Nota: *O cobas® 4800 System dispõe de um relógio interno para monitorizar o intervalo de tempo que os reagentes estão a bordo do equipamento. Uma vez lido o WB, dispõe de 1 hora para concluir o processo de carregamento e clicar no botão “Start”. Aparece um temporizador de contagem decrescente no separador “Workplace”. O sistema não permite que a corrida se inicie se tiver expirado o tempo a bordo do equipamento.*

Nota: *Para garantir a precisão da transferência do MGP, agite vigorosamente o frasco de MGP imediatamente antes de o dispensar no reservatório de reagente.*

8. Carregue os reagentes de amplificação/deteção (HSV 1 e 2 MMX e Cofactor-2), o Proteinase K (PK) e os controlos [HSV 1 e 2 (+) C, IC e (-) C] diretamente nos suportes de reagentes. De modo a evitar contaminação, é necessário trocar as luvas depois de manusear controlos positivos.

Nota: *O assistente do software calcula o número e o tamanho ideal de reagente cobas® HSV 1 e 2 MMX a utilizar. Isto será indicado na coluna “Kit size” do ecrã de carregamento de MMX e Co-factor. Para usar um tamanho diferente de reagente cobas® HSV 1 e 2 MMX, clique no botão “Change kit size”.*

9. Inicie a preparação de amostras clicando em “Start run”.
10. Depois de concluída com êxito a corrida de preparação de amostras, ficam disponíveis os botões “Sample Preparation results” e “Unload”. Se desejar examinar os resultados, selecione o botão “Sample Preparation results” e depois selecione “Unload” para descarregar o suporte de placas. Alternativamente, selecione “Unload” para descarregar o suporte de placas sem examinar os resultados. Consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.
11. Siga as instruções da Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System para selar a microplaca, transportar a placa para o cobas® z 480 analyzer e iniciar a corrida de amplificação e deteção.

Nota: *O cobas® 4800 System dispõe de um relógio interno para monitorizar o intervalo de tempo após a adição da mistura principal às amostras preparadas. A amplificação e deteção deverá ser iniciada o mais cedo possível, mas nunca depois de 90 minutos após o final da corrida no equipamento cobas® x 480. Aparece um temporizador de contagem decrescente no separador “Workplace”. O sistema cancela a corrida se tiver expirado o tempo a bordo do equipamento.*

12. Quando estiver concluída a corrida de amplificação e deteção, descarregue a microplaca do analisador cobas® z 480.
13. Para conferir e aceitar resultados, siga as instruções da Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

Resultados

Controlo de qualidade e validade dos resultados

Numa corrida é incluído sempre um conjunto de Controlos Negativo e Positivo do teste **cobas**® HSV 1 e 2. Em qualquer corrida, para apresentar os resultados do teste **cobas**® HSV 1 e 2 dessa corrida, têm de ser obtidos resultados válidos para ambos os Controlos Positivo e Negativo do software **cobas**® 4800.

Controlo positivo

O Controlo HSV 1 e 2 (+) contém ADN de plasmídeos não infecciosos de ambos o HSV-1 e o HSV-2. O Controlo HSV 1 e 2 (+) monitoriza os passos de extração, amplificação e deteção de uma determinada corrida do teste. O resultado do Controlo HSV 1 e 2 (+) deve ser “Valid”. Se os resultados do Controlo HSV 1 e 2 (+) forem, de forma consistente, “Invalid”, contacte o representante local da Roche, para obter assistência técnica.

Controlo negativo

O resultado do Controlo (–) deve ser “Valid”. Se os resultados do Controlo (–) forem, de forma consistente, “Invalid”, contacte o representante local da Roche, para obter assistência técnica.

Controlo interno

O Controlo Interno é uma molécula fago lambda que contém alvos e sequências aleatórias para sondas e iniciadores específicos do controlo interno. O Controlo Interno é adicionado a todas as amostras e aos Controlos Positivo e Negativo durante a preparação de amostras no equipamento **cobas**® x 480. O Controlo Interno monitoriza os passos de extração, amplificação e deteção de ácido nucleico de uma determinada amostra. O Controlo Interno também é necessário para a validação dos controlos da corrida.

Interpretação dos resultados

Nota: A validação de todos os ensaios e corridas é determinada pelo software **cobas® 4800.**

Nota: Uma corrida válida poderá incluir resultados de amostras válidos e inválidos.

Para uma corrida válida, os resultados de amostra são interpretados conforme indicado na Tabela 1.

Tabela 1: Interpretação de resultados do teste cobas® HSV 1 e 2

Teste cobas® HSV 1 e 2	Relatório e Interpretação de Resultados
POS HSV 1, POS HSV 2	Positivo para o HSV-1, Positivo para o HSV-2 A amostra é positiva relativamente à presença de ADN de HSV-1 e de HSV-2.
NEG HSV 1, NEG HSV 2	Negativo para o HSV-1*, Negativo para o HSV-2* Não foi detetado ADN de HSV-1 nem de HSV-2, caso presentes.
NEG HSV 1, POS HSV 2	Negativo para o HSV-1*, Positivo para o HSV-2 Não foi detetado ADN de HSV-1, caso presente. A amostra é positiva para a presença de ADN de HSV-2.
POS HSV 1, NEG HSV 2	Positivo para o HSV-1, Negativo para o HSV-2* A amostra é positiva para a presença de ADN de HSV-1. Não foi detetado ADN de HSV-2, caso presente.
Invalid HSV 1, NEG HSV 2	Inválido para o HSV-1, Negativo para o HSV-2* O resultado para o HSV-1 é inválido. A amostra original deverá ser novamente testada para obter um resultado válido para o HSV-1. Não foi detetado ADN de HSV-2, caso presente.
NEG HSV 1, Invalid HSV 2	Negativo para o HSV-1*, Inválido para o HSV-2 Não foi detetado ADN de HSV-1, caso presente. O resultado para o HSV-2 é inválido. A amostra original deverá ser novamente testada para obter um resultado válido para o HSV-2.
Invalid HSV 1, Invalid HSV 2	Inválido para o HSV-1, Inválido para o HSV-2 Os resultados tanto para o HSV-1 como para o HSV-2 são inválidos. A amostra original deverá ser novamente testada para obter resultados válidos para o HSV-1 e para o HSV-2.
Invalid HSV 1, POS HSV 2	Inválido para o HSV-1, Positivo para o HSV-2 O resultado para o HSV-1 é inválido. A amostra original deverá ser novamente testada para obter um resultado válido para o HSV-1. A amostra é positiva para a presença de ADN de HSV-2.
POS HSV 1, Invalid HSV 2	Positivo para o HSV-1, Inválido para o HSV-2 A amostra é positiva para a presença de ADN de HSV-1. O resultado para o HSV-2 é inválido. A amostra original deverá ser novamente testada para obter um resultado válido para o HSV-2.
Failed	Nenhum resultado para a amostra Para instruções sobre como analisar alarmes de corridas e as ações recomendadas, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System. A amostra original deverá ser vigorosamente misturada durante um mínimo de 5 segundos e novamente testada para obter resultados válidos para o HSV.

* Um resultado negativo não exclui a presença de HSV-1 e/ou HSV-2, porque os resultados dependem de uma colheita de amostra adequada, da ausência de inibidores e de ADN suficiente para poder ser detetado.

Poderão ser obtidos resultados inválidos se as amostras contiverem substâncias inibidoras que impeçam a extração do ácido nucleico alvo e/ou a sua amplificação e deteção. Para as substâncias interferentes conhecidas, consulte a secção “Limitações do procedimento”. No caso de resultados inválidos, dilua a amostra original adicionando 0,2 ml da amostra num novo frasco de MSwab, misture vigorosamente durante pelo menos 5 segundos e teste novamente.

Poderão ser obtidos resultados “Failed” se a amostra contiver coágulos que interfiram com o procedimento de preparação de amostras no equipamento cobas® 4800.

Lista de alarmes de resultados

A tabela que se segue apresenta uma lista dos alarmes que são relevantes para a interpretação de resultados.

Tabela 2 Lista de alarmes do teste cobas® HSV 1 e 2

Teste cobas® HSV 1 e 2	Teste cobas® HSV 1 e 2	Relatório e interpretação de resultados
R20	O controlo positivo é inválido.	Um controlo externo é inválido. 1. Repita a corrida inteira com novos reagentes. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
R21	O controlo negativo é inválido.	Um controlo externo é inválido. 1. Repita a corrida inteira com novos reagentes. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
X3	Erro: Foi detetado um coágulo. A amostra não foi processada.	Certifique-se de que as amostras foram manuseadas de acordo com a descrição do fluxo de trabalho. 1. Verifique a amostra quanto a coágulos. 2. Execute novamente a amostra.
X4	Erro: ocorreu um erro de pipetagem. A amostra não foi processada.	O motivo mais provável deverá ser um volume de amostra insuficiente ou um erro mecânico durante a pipetagem. 1. Assegure-se de que há volume de amostra suficiente. 2. Verifique se a placa de ejeção de pontas está colocada corretamente. 3. Execute novamente a amostra.

Limitações do procedimento

1. O teste **cobas®** HSV 1 e 2 só foi validado para ser utilizado com zaragatoas com amostras de feridas anogenitais colhidas com o sistema de colheita, tTransporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab.
2. A obtenção de resultados fiáveis está dependente da colheita, transporte, armazenamento e processamento adequados das amostras. Siga os procedimentos deste documento de instruções de utilização (também designado como um Folheto informativo), os folhetos informativos do sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab e a Assistência ao utilizador do **cobas®** 4800 System.
3. Devido à interferência de várias substâncias, poderão ocorrer resultados falsos negativos ou inválidos. O Controlo Interno está incluído no teste **cobas®** HSV 1 e 2 para ajudar a identificar as amostras que contêm substâncias passíveis de interferir com o isolamento do ácido nucleico e a amplificação por PCR. As substâncias interferentes conhecidas incluem, mas podem não se limitar, às seguintes:
 - As amostras que contêm sangue numa quantidade superior a 40% do volume absorvido pela zaragatoa podem gerar resultados falsos negativos. Não processe amostras que tenham cor vermelha escura ou castanha.
 - As amostras que contêm mais do que 4,8 mg de mucina por zaragatoa podem gerar resultados falsos negativos.
 - As amostras que contêm mais do que 1,6 mg de fezes por zaragatoa podem gerar resultados falsos negativos.

- As amostras que contêm 20 mg ou mais de Vagisil Crème podem gerar resultados falsos negativos.
4. Um resultado positivo é indicativo da presença de ADN do HSV, mas não necessariamente de vírus viáveis. Um resultado negativo não exclui a presença de HSV, mas pode ser devido a ADN insuficiente na amostra clínica.
 5. Mutações ou polimorfismos em regiões de ligação do iniciador ou da sonda poderão afetar a detecção de variantes novas ou desconhecidas, originando um resultado falso negativo com o teste **cobas**® HSV 1 e 2.
 6. O valor previsto de um ensaio depende da prevalência da doença numa determinada população.
 7. A adição de enzima AmpErase à Mistura Principal **cobas**® 4800 HSV 1 e 2 permite a amplificação seletiva do ADN alvo; no entanto, para evitar a contaminação dos reagentes e das misturas de amplificação, é necessário observar boas práticas laboratoriais e cumprir cuidadosamente os procedimentos especificados neste documento de instruções de utilização.
 8. A utilização deste produto deve estar limitada a pessoal com formação em técnicas de PCR e na utilização do **cobas**® 4800 System.
 9. Apenas o equipamento **cobas**® x 480 e o analisador **cobas**® z 480 foram validados para utilização com este produto. Nenhum outro equipamento de preparação de amostras ou Sistema de PCR pode ser utilizado com este produto.
 10. Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para qualificar as diferenças tecnológicas. Não se prevê uma concordância de cem por cento entre os resultados, devido às diferenças anteriormente referidas entre tecnologias.
 11. A contaminação cruzada pode causar resultados falsos positivos. Num estudo não clínico, a taxa de contaminação cruzada de amostra para amostra do teste **cobas**® HSV 1 e 2 no **cobas**® 4800 System foi determinada como sendo inferior a 1,18%, ao serem testadas alternadamente amostras altamente positivas e negativas no decorrer de várias corridas. Não foi observada contaminação cruzada de corrida para corrida.

Avaliação do desempenho não clínico

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (Limite de Detecção ou LOD) do teste **cobas**® HSV 1 e 2 foi determinada por análise quantitativa de culturas de vírus HSV-1 e HSV-2 diluídas a vários níveis de concentração numa matriz simulada de ferida anogenital. A matriz simulada, composta de mucina e células humanas, imita o efeito do fundo de amostras clínicas anogenitais para o teste **cobas**® HSV 1 e 2. Foram testados todos os níveis, com pelo menos 21 réplicas, utilizando o "Full workflow" (fluxo de trabalho completo) do teste **cobas**® HSV 1 e 2, com 5 lotes de reagentes do teste **cobas**® HSV 1 e 2. O LOD para este teste é definido como a concentração do alvo que pode ser detetada como positiva em $\geq 95\%$ das réplicas testadas, com base nos resultados gerados pelo lote de pior desempenho.

No estudo de sensibilidade analítica, foram testadas as estirpes MacIntyre do HSV-1 e G do HSV-2. O LOD do teste **cobas**® HSV 1 e 2 nestes isolados é indicado na Tabela 3.

Tabela 3: Limite de Detecção (LOD) do teste cobas® HSV 1 e 2

Organismo	Estirpe	ID ATCC	Níveis testados	LOD (TCID ₅₀ unidades/ml)
HSV-1	MacIntyre	VR-539	6	0,479
HSV-2	G	VR-734	6	0,112

Detecção de estirpes do HSV-1 e HSV-2

Foram verificados os limites de detecção (LOD) do teste **cobas®** HSV 1 e 2 em 4 estirpes do HSV-1 (VR-260, VR-733, VR-735 e VR-1493) e em 3 estirpes do HSV-2 (VR-1779, VR-1781 e VR-540), testando 40 réplicas por nível a vários níveis de concentração. Foram preparadas diluições e amostras de teste de uma maneira semelhante à descrita no estudo do Limite de Detecção (LOD). A Tabela 4 e a Tabela 5 mostram os níveis mais baixos a que se observou uma taxa de positividade de pelo menos 95%.

Tabela 4: Limite de Detecção (LOD) do teste cobas® HSV 1 e 2 em estirpes do HSV-1

Estirpes do HSV-1	ID ATCC	Níveis testados	LOD (TCID ₅₀ unidades/ml)
KOS	VR-1493	5	3,41
HF	VR-260	6	14,07
F	VR-733	5	5,20
MP	VR-735	4	0,04

Tabela 5: Limite de Detecção (LOD) do teste cobas® HSV 1 e 2 em estirpes do HSV-2

Estirpes do HSV-2	ID ATCC	Níveis testados	LOD (TCID ₅₀ unidades/ml)
ATCC-2011-2	VR-1779	5	0,26
ATCC-2011-4	VR-1781	5	0,24
MS	VR-540	5	2,34

Precisão

Foi realizado um estudo de precisão interno com os vírus HSV-1 e HSV-2 diluídos numa matriz simulada de zaratogoa anogenital, para níveis de concentração abaixo do Limite de Detecção (LOD), perto do LOD e acima do LOD do teste **cobas®** HSV 1 e 2. Também foi testado um nível negativo composto apenas pela matriz simulada de zaratogoa anogenital. O estudo utilizou 3 lotes de reagentes exclusivos do teste **cobas®** HSV 1 e 2 e 3 equipamentos, para um total de 36 corridas num período de tempo de 12 dias. A Tabela 6 apresenta uma descrição dos painéis de precisão e os resultados do estudo. Foi efetuada uma análise da variação dos valores de Ct dos testes válidos em membros do painel positivos a concentrações acima do LOD. A análise produziu um CV (%) geral de 2,2% para o Ct do HSV-1 e 1,9% para o Ct do HSV-2 (ver a Tabela 7 e a Tabela 8).

Tabela 6: Estudo de precisão interno com análise de taxa de positividade

Membro do Painel	Concentração		HSV-1 (N=72)			HSV-2 (N=72)		
	HSV-1	HSV-2	Resultados Positivos	Taxa de positividade	LC bilateral superior de 95%	Resultados Positivos	Taxa de positividade	LC bilateral superior de 95%
P1	Negativo	Negativo	0	0%	5%	0	0%	5%
P2	< LOD	< LOD	36	50%	62%	40	56%	67%
P3	~ LOD	Negativo	72	100%	100%	0	0%	5%
P4	Negativo	~ LOD	0	0%	5%	71	99%	100%
P5	~3 x LOD	~ LOD	72	100%	100%	72	100%	100%
P6	~ LOD	~ 3 x LOD	72	100%	100%	72	100%	100%

Tabela 7: Análise dos componentes de variação do painel de precisão a 3 x LOD (Limite de Detecção)

Alvo	Nível de HSV	Ct Médio	Componentes de variação / Percentagem de contribuição do total					
			Lote	Tamanho do kit	Equipamento	Corrida/Dia	Aleatório	Total
HSV-1	~ 3 x LOD	37,4	0	0,06	0	0,355	0,289	0,704
			0%	8,60%	0%	50,40%	41,10%	100%
HSV-2	~ 3 x LOD	38,2	0,035	0	0,049	0,102	0,345	0,53
			6,50%	0%	9,10%	19,30%	65,00%	100%

Tabela 8: Análise dos desvios padrão e coeficientes de variação (%) do painel de precisão a 3 x LOD (Limite de Detecção)

Alvo	N	Ct Médio	Componentes do desvio padrão/CV (%)					Total
			Lote	Tamanho do kit	Equipamento	Corrida/Dia	Aleatório	
HSV-1	72	37,4	0	0,245	0	0,595	0,538	0,839
			0%	0,70%	0%	1,60%	1,40%	2,20%
HSV-2	72	38,2	0,186	0	0,22	0,32	0,587	0,728
			0,50%	0%	0,60%	0,80%	1,50%	1,90%

Inibição competitiva

Os painéis foram construídos com HSV-1 a ~ 3 x LOD (Limite de Detecção) e HSV-2 competitivo a ~ 300 x LOD do teste **cobas**® HSV 1 e 2; e vice-versa. Uma concentração 100 vezes superior de HSV-1 não afetou a detecção de HSV-2 à concentração de ~ 3 x LOD, e uma concentração 100 vezes superior de HSV-2 não afetou a detecção de HSV-1 à concentração de ~ 3 x LOD.

Especificidade analítica

Para avaliar a especificidade analítica do teste **cobas**® HSV 1 e 2, foram testados os seguintes painéis de organismos: 1) 71 bactérias, fungos e vírus que poderão ser encontrados em amostras anogenitais (Tabela 9), 2) células humanas (Tabela 9) e 3) HSV-1 ou HSV-2 de título elevado (Tabela 9). Todos os organismos, células humanas e vírus HSV-1 e HSV-2 foram adicionados a uma concentração de 1×10^6 Unidades*/ml ou superior, exceto os *Treponema pallidum*; Vírus do herpes humano 8, *Chlamydia trachomatis* serovar H, *Mycoplasma genitalium* e *Mycoplasma hominis*, que foram adicionados a uma concentração mais baixa devido a limitações de concentração de stock. Para determinar a especificidade analítica do teste **cobas**® HSV 1 e 2, foram executados testes com os organismos e as células humanas sozinhos, ou foram testados na presença de HSV-1 e HSV-2 a uma concentração $\sim 3 \times$ LOD para avaliar a potencial interferência dos organismos e das células humanas na detecção do HSV-1 e HSV-2 pelo teste **cobas**® HSV 1 e 2. Os resultados indicaram que nenhum destes organismos ou uma alta concentração de células humanas produziram resultados falsos positivos quando não estava presente qualquer alvo HSV-1 e HSV-2. Nenhum destes organismos ou uma alta concentração de células humanas interferiram com a detecção dos alvos HSV-1 e HSV-2. Uma alta concentração de HSV-1 (1e6 vp/ml) não produziu resultados falsos positivos de HSV-2, nem uma alta concentração de HSV-2 (1e6 vp/ml) produziu resultados falsos positivos de HSV-1.

*Todas as bactérias foram quantificadas em unidades formadoras de colônias (CFU), exceto as *Chlamydia trachomatis* serovar H e *Chlamydia trachomatis* serovar I, que foram quantificadas em unidades formadoras de inclusões (IFU); a *Toxoplasma gondii* e a *Treponema pallidum* que foram quantificadas em cópias de ADN e a *Trichomonas vaginalis* que foi quantificada em células. O citomegalovírus (HHV5), o vírus do herpes humano 6B estirpe Z29, o vírus do herpes humano 7 estirpe SB, o vírus do herpes humano 8, o ecovírus 11, o enterovírus humano 71 e o vírus da rubéola foram quantificados em unidades TCID₅₀; o HHV-6A estirpe GS, o HSV-1 e o HSV-2 foram quantificados em partículas virais, o HIV-1 estirpe IIIB e o HBV foram quantificados em Unidades Internacionais (UI). O HIV-2 estirpe NIH-Z, o vírus de Epstein Barr (HHV4), o vírus da Varicela-Zoster (HHV3) e os plasmídios do HPV (HPV11, HPV16, HPV18, HPV06) foram quantificados em cópias de ADN. As células mononucleares do sangue periférico humano (PBMC) foram quantificadas em número de células.

Tabela 9: Micro-organismos e células testados relativamente a Especificidade analítica

Adenovírus humano tipo 7	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Citomegalovírus (HHV5)	<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	<i>Moraxella lacunata</i>
Vírus de Epstein-Barr (HHV4)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Vírus da varicela-zoster (HHV3)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> *
Vírus do herpes humano tipo 6A estirpe GS	<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycoplasma hominis</i> *
Vírus do herpes humano tipo 6B estirpe Z29	<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar H*	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Vírus do herpes humano tipo 7 estirpe SB	<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar I	<i>Neisseria meningitidis</i>
Vírus do herpes humano tipo 8*	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
Ecovírus 11	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
Enterovírus 71	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
HBV	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
HIV-1 estirpe IIIB	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
HIV-2 estirpe NIH-Z	<i>Enterococcus faecalis</i> vanB	<i>Streptococcus mitis</i>
HPV11	<i>Enterococcus faecium</i> vanA	<i>Streptococcus mutans</i>
HPV16	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
HPV18	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
HPV6	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
Vírus da rubéola	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Treponema pallidum</i> *
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. ozaenae	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PBMC (ADN genómico humano)
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Vírus do herpes simples 1
<i>Candida albicans</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i> subespécie <i>curtisii</i>	Vírus do herpes simples 2
<i>Candida glabrata</i>	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-

* O vírus do herpes humano tipo 8 foi testado a $1,3 \times 10^4$ TCID₅₀ unidades/ml; o *Chlamydia trachomatis* serovar H foi testado a $1,9 \times 10^4$ IFU/ml; o *Mycoplasma genitalium* foi testado a $1,0 \times 10^5$ CFU/ml; o *Mycoplasma hominis* foi testado a $1,5 \times 10^4$ CFU/ml; o *Treponema pallidum* foi testado a $9,0 \times 10^4$ cópias/ml.

Interferência

Foram testados 20 produtos de venda livre (PVL) e medicamentos antivirais frequentemente utilizados, assim como sangue total, albumina sérica humana, urina, fezes e mucina, relativamente aos efeitos de uma possível interferência com o teste **cobas**® HSV 1 e 2. Todos os PVL foram testados a níveis iguais ou acima do que seria razoavelmente esperado de ser colhido por uma zaragatoa numa amostra de uma ferida anogenital (20 mg ou 40 mg por zaragatoa respetivamente para sólidos e 100% da capacidade para líquidos). Todos os medicamentos antivirais foram testados a 3 x o nível máximo de plasma (Cmax) na amostra colhida. Foram adicionados o HSV-1 e o HSV-2 numa concentração de 3 x o Limite de Detecção (LOD) do teste **cobas**® HSV 1 e 2 e usados como alvos nos testes.

Não foi observada qualquer interferência para os PVL, exceto para o Vagisil Crème (foi observada interferência a 20 mg). Para sangue total, não foi observada qualquer interferência até 40% da capacidade da zaragatoa; para mucina, não foi observada qualquer interferência até 4,8 mg por zaragatoa; para urina, não foi observada qualquer interferência até 100% da capacidade da zaragatoa; para fezes, não foi

observada qualquer interferência até 1,6 mg por zaragatoa e, para albumina sérica humana, não foi observada qualquer interferência até 16 mg por zaragatoa. Estes resultados estão indicados na Tabela 10.

Tabela 10: Resultados de testes com substâncias interferentes

Substância	Interpretação
Sangue total	Nenhuma interferência observada até 40% da capacidade da zaragatoa
Mucina	Nenhuma interferência observada até 4,8 mg por zaragatoa
Urina	Nenhuma interferência observada
Fezes	Nenhuma interferência observada até 1,6 mg por zaragatoa
Albumina sérica humana	Nenhuma interferência observada até 16 mg por zaragatoa
Gel K-Y (lubrificante pessoal)	Nenhuma interferência observada
Gynol II (gel contraceptivo)	Nenhuma interferência observada
Supositórios YeastGard	Nenhuma interferência observada
Monistat 1	Nenhuma interferência observada
Monistat 3	Nenhuma interferência observada
VagiStat 1	Nenhuma interferência observada
Creme vaginal Clotrimazole	Nenhuma interferência observada
Creme hemorroidal Preparação H	Nenhuma interferência observada
Tratamento de aftas na boca Abreva	Nenhuma interferência observada
Tratamento de aftas na boca Releev	Nenhuma interferência observada
Creme Aciclovir	Nenhuma interferência observada
Vagisil Crème	Interferência observada a 20 mg*
Loção de limpeza higiênica Balneol Hygienic	Nenhuma interferência observada até 20 mg*
Creme anti-prurido Vagicare	Nenhuma interferência observada até 20 mg*
VH Essentials Douche	Nenhuma interferência observada
Denavir	Nenhuma interferência observada
Famciclovir	Nenhuma interferência observada
Valacyclovir	Nenhuma interferência observada
Cidofovir	Nenhuma interferência observada
Aciclovir	Nenhuma interferência observada

* 20 mg é uma quantidade média típica de produto não líquido absorvido por uma zaragatoa FLOQ.

Desempenho clínico com amostras clínicas

O desempenho do teste **cobas**® HSV 1 e 2 foi comparado com um teste de ácidos nucleicos (NAAT), comparável e State-of-the-Art, de marca CE e aprovado pela FDA. De cada indivíduo registrado no estudo, foram colhidas duas amostras anogenitais. A amostra para o teste **cobas**® HSV 1 e 2 foi colhida com o sistema de colheita, transporte e preservação de zaragatoas em meio MSwab, e a amostra para o teste comparável foi colhida com o Sistema de Transporte Viral Universal COPAN.

Foi colhido um total de 370 zaragatoas de feridas anogenitais em várias localizações dos Estados Unidos, e as mesmas foram testadas pelo teste **cobas**® HSV-1 e 2 e pelo teste comparável. Foram encontradas 33 amostras positivas para o HSV-1 e 147 amostras positivas para o HSV-2 pelo teste **cobas**® HSV 1 e 2 (prevalência: HSV-1 8,9%; HSV-2 39,7%). A Tabela 11 apresenta o desempenho do teste **cobas**® HSV 1 e 2 e do NAAT comparável, sem resolução de discrepância. Os resultados discrepantes entre o teste **cobas**® HSV 1 e 2 Test e o teste comparável foram resolvidos por sequenciação. Depois de resolvida a discrepância, foram estimadas a sensibilidade e a especificidade do teste **cobas**® HSV 1 e 2 e os resultados estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 11: Teste cobas® HSV 1 e 2 e teste de ácidos nucleicos comparável (NAAT)

HSV-1		NAAT comparável		
		Positivo	Negativo	Total
cobas ® HSV 1 e 2	Positivo	31	2	33
	Negativo	1	336	337
	Total	32	338	370
		Estimativa	IC unilateral inferior de 95%	
Concordância na percentagem de positivos		96,9%	86,0%	
Concordância na percentagem de negativos		99,4%	98,1%	

HSV-2		NAAT comparável		
		Positivo	Negativo	Total
cobas ® HSV 1 e 2	Positivo	127	20	147
	Negativo	0	223	223
	Total	127	243	370
		Estimativa	IC unilateral inferior de 95%	
Concordância na percentagem de positivos		100%	97,7%	
Concordância na percentagem de negativos		91,8%	88,3%	

Tabela 12: Teste cobas® HSV-1 e 2 e teste de ácidos nucleicos comparável (NAAT) depois de resolvida a discrepância

HSV-1		NAAT comparável		
		Positivo	Negativo	Total
cobas® HSV 1 e 2	Positivo	32	1	33
	Negativo	0	337	337
	Total	32	338	370
		Estimativa	IC unilateral inferior de 95%	
Sensibilidade*		100%	91,1%	
Especificidade*		99,7%	98,6%	

HSV-2		NAAT comparável		
		Positivo	Negativo	Total
cobas® HSV 1 e 2	Positivo	141	5	146
	Negativo	0	223	223
	Total	141	228	369**
		Estimativa	IC unilateral inferior de 95%	
Sensibilidade*		100%	97,9%	
Especificidade*		97,8%	95,4%	

* apenas amostras discrepantes foram sequenciadas para resolver a discrepância.

** apenas amostras discrepantes para as quais não estavam disponíveis dados de sequenciação foram excluídas da análise.

Com base nas estimativas de sensibilidade e especificidade depois de resolvida a discrepância por sequenciação, os valores preditivos positivos observados do teste **cobas®** HSV 1 e 2 para as amostras do estudo foram de 97,0% para o HSV-1 e 96,8% para o HSV-2; os valores preditivos negativos observados foram de 100% para ambos o HSV-1 e o HSV-2.

Informações adicionais

Características principais do ensaio

Tipo de amostra	Amostras de feridas anogenitais
Quantidade de amostra necessária	Para um teste cobas ® HSV 1 e 2 é necessário um mínimo de 700 µl em 1,6 ml de meio MSwab num frasco primário.
Duração do teste	Os resultados ficam disponíveis no prazo de 2,5 horas após o carregamento das amostras no sistema (1 a 22 amostras).
Sensibilidade analítica	0,479 TCID ₅₀ unidades/ml para o HSV-1 (estirpe MacIntyre, ATCC VR-539); 0,112 TCID ₅₀ unidades/ml para o HSV-2 (estirpe G, ATCC VR-734)
Especificidade	Nenhuma reatividade cruzada com 71 organismos estreitamente relacionados ou organismos geralmente presentes em amostras de feridas anogenitais. Não foram observados falsos positivos para o HSV-2 na presença de 1×10^6 vp/ml de HSV-1; nem falsos positivos para o HSV-1 na presença de 1×10^6 vp/ml de HSV-2.
Inclusividade	Foram testadas 5 estirpes do HSV-1 e 4 estirpes do HSV-2

Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados em todas as etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche.

Tabela 13: Símbolos utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

 Idade ou data de nascimento	 Dispositivo não para testes efetuados próximo dos pacientes	 UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.
 Software auxiliar	 Dispositivo não para autotestes	 Número de série
 Intervalo atribuído (cópias/ml)	 Distribuidor (Nota: o país/região aplicável poderá estar indicado por baixo do símbolo.)	 Centro
 Intervalo atribuído (UI/ml)	 Não reutilizar	 Procedimento padrão
 Representante autorizado na Comunidade Europeia	 Mulher	 Esterilizado com óxido de etileno
 Folha de dados de códigos de barras	 Apenas para avaliação do desempenho IVD	 Armazenar no escuro
 Número do lote	 Global Trade Item Number	 Limite de temperatura
 Risco biológico	 Importador	 Ficheiro de definição de teste
 Referência de catálogo	 Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Este lado para cima
 Marcação de conformidade CE; este dispositivo está em conformidade com os requisitos aplicáveis para marcação CE de um dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 Limite inferior do intervalo atribuído	 Procedimento ultrasensível
 Data da colheita	 Homem	 Identificação exclusiva do equipamento
 Consulte as instruções de utilização	 Fabricante	 Limite superior do intervalo atribuído
 Conteúdo suficiente para <n> testes	 Controlo negativo	 Linha de enchimento da urina
 Conteúdo do kit	 Não esterilizado	 Apenas nos EUA: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um profissional licenciado ou a pedido deste.
 Controlo	 Nome do paciente	 Prazo de validade
 Data do fabrico	 Número do paciente	
 Dispositivo para testes efetuados próximo dos pacientes	 Abra aqui	
 Dispositivo para autotestes	 Controlo positivo	
	 Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.	

Apoio técnico

Para apoio técnico (assistência) entre em contacto com a sua filial local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabela 14 Fabricante e importador



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Fabricado nos EUA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas comerciais e patentes

Consulte <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Direitos de autor

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Fatahzadeh M, Schwartz RA. Human herpes simplex virus infections: epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57(5):737-763; quiz 764-766.
2. Gupta R, Warren T, Wald A. Genital herpes. *Lancet*. 2007;370(9605):2127-2137.
3. Paz-Bailey G, Ramaswamy M, Hawkes SJ, Geretti AM. Herpes simplex virus type 2: epidemiology and management options in developing countries. *Sex Transm Infect*. 2007;83(1):16-22.
4. Xu F, Sternberg MR, Kottiri BJ, et al. Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA*. 2006;296(8):964-973.
5. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years--United States, 2005-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2010;59(15):456-459.
6. Langenberg AG, Corey L, Ashley RL, Leong WP, Straus SE. A prospective study of new infections with herpes simplex virus type 1 and type 2. Chiron HSV vaccine study group. *N Engl J Med*. 1999;341(19):1432-1438.
7. Lafferty WE, Coombs RW, Benedetti J, Critchlow C, Corey L. Recurrences after oral and genital herpes simplex virus infection. Influence of site of infection and viral type. *N Engl J Med*. 1987;316(23):1444-1449.
8. Engelberg R, Carrell D, Krantz E, Corey L, Wald A. Natural history of genital herpes simplex virus type 1 infection. *Sex Transm Dis*. 2003;30(2):174-177.
9. Benedetti J, Corey L, Ashley R. Recurrence rates in genital herpes after symptomatic first-episode infection. *Ann Intern Med*. 1994;121(11):847-854.
10. Ryan C, Kinghorn G. Clinical assessment of assays for diagnosis of herpes simplex infection. *Expert Rev Mol Diagn*. 2006;6(5):767-775.
11. Scoular A, Gillespie G, Carman WF. Polymerase chain reaction for diagnosis of genital herpes in a genitourinary medicine clinic. *Sex Transm Infect*. 2002;78(1):21-25.
12. Strick LB, Wald A. Diagnostics for herpes simplex virus: is PCR the new gold standard? *Mol Diagn Ther*. 2006;10(1):17-28.
13. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93(1):125-128.
14. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. CLSI document M29-A3 Villanova, PA. Approved guideline-third edition. 2005.
16. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations. 48th edition. 2007.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Viral Culture. CLSI document M41-A Wayne, PA. Approved guideline. 2006.

Informações de revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc. Rev. 4.0 02/2024	Atualizadas as informações sobre perigos dos kits Lysis Kit 1. Secção Marcas comerciais e patentes atualizada, incluindo o link. Marca cobas® atualizada. Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.

O resumo de relatório de segurança e de desempenho pode ser utilizado com o seguinte link:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>