



# AmpliVue<sup>®</sup>

HSV 1+2 ASSAY

**Para la detección cualitativa y diferenciación de los ácidos nucleicos del virus *Herpes simplex 1 (HSV-1)* y del virus *Herpes simplex 2 (HSV-2)* aislados a partir de lesiones cutáneas o mucocutáneas de pacientes**

PARA USO

DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

**Rx ONLY**

Contenidos

USO PREVISTO ..... 2

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA ..... 2

PRINCIPIO DEL ENSAYO ..... 3

MATERIALES PROVISTOS ..... 4

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTOS ..... 4

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES ..... 4

ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD ..... 5

    Muestras de HSV ..... 5

    Reactivos ..... 5

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO ..... 5

    Preparación de Muestras ..... 5

    Amplificación ..... 5

    Detección ..... 5

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS ..... 6

CONTROL DE CALIDAD ..... 7

LIMITACIONES ..... 7

RESULTADOS ESPERADOS ..... 8

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO ..... 9

    Rendimiento Clínico ..... 9

RENDIMIENTO ANALÍTICO ..... 10

    Precisión – Repetibilidad ..... 10

    Precisión/Reproducibilidad ..... 10

    Especificidad Analítica/Reactividad Cruzada ..... 12

    Estudios de Interferencia ..... 15

    Límite de Detección ..... 17

    Contaminación de Arrastre/ Cruzada ..... 18

DISPOSICIÓN ..... 18

ATENCIÓN AL CONSUMIDOR Y ASISTENCIA TÉCNICA ..... 18



## USO PREVISTO

El Ensayo AmpliVue HSV 1+2 es una prueba diagnóstica *in vitro* para la detección y diferenciación directa y cualitativa del ADN del Virus Herpes Simplex 1 (HSV-1) y Herpes Simplex 2 (HSV-2) en muestras de lesiones cutáneas y mucocutáneas de pacientes sintomáticos. El uso previsto de la prueba es asistir en el diagnóstico de infección con HSV en pacientes sintomáticos.

**Advertencia:** El Ensayo AmpliVue HSV 1+2 no cuenta con autorización de la FDA [Administración Estadounidense de Medicamentos y Alimentos] para uso con líquido ceforraquídeo (LCR). El ensayo no está previsto para uso en estudios prenatales.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La infección con el virus *herpes simplex* (HSV) se cuenta entre las infecciones humanas más ubicuas.<sup>1</sup> El HSV infecta neonatos, niños y adultos, y se transmite por contacto directo con el virus en secreciones ya sea procedentes de sujetos sintomáticos o asintomáticos.<sup>1-4</sup> Luego de la infección primaria, el HSV establece infecciones que se mantienen latentes de por vida, que se reactivan de manera periódica y pueden asociarse a episodios recurrentes de enfermedad, con o sin síntomas clínicos, y como tal, la infección a menudo se transmite sin saberlo.<sup>5-8</sup>

Los virus de *Herpes simplex* pueden clasificarse en dos tipos: HSV-1 y HSV-2. El HSV-1 provoca lesiones bucales y genitales, y en ocasiones faciales. La infección inicial es la más grave con estomatitis ulcerosa y dolorosa que por lo general se da en niños.<sup>9</sup> La reactivación del HSV-1 en la boca por lo general provoca lesiones en labios ("llagas labiales").<sup>10</sup> En todo el mundo, aproximadamente 90% de la población cuenta con anticuerpos para uno de los dos HSV o para ambos (HSV-1 y HSV-2).<sup>11</sup> El HSV-2 se asocia principalmente a infecciones genitales y neonatales y al menos 50 millones de personas en los Estados Unidos están infectados con herpes genital HSV-2.<sup>12</sup> No obstante, estudios recientes sugieren que entre el 20% y el 50% de los episodios recurrentes de herpes genital vienen provocados por HSV-1 y la proporción de dichos casos de recurrencia debidos a HSV-1 puede ir en crecimiento.<sup>13-17</sup>

Es necesaria la identificación precisa de personas con HSV para el manejo óptimo del paciente y para evitar que se transmita el virus. Debido a la posibilidad de imprecisiones inherentes, el diagnóstico clínico de una infección con HSV debería confirmarse en laboratorio.<sup>18</sup>

El cultivo del virus es el medio más definitivo de diagnosticar una infección con HSV.<sup>19</sup> El cultivo implica inocular una muestra sobre una monocapa celular de cultivo de tejido seguido de observación microscópica diaria en busca de efectos citopáticos (CPE, en inglés). Normalmente, los efectos citopáticos del HSV aparecen entre las 24 y las 72 horas, pero pueden llegar a necesitar 5 días. Los cultivos normalmente se conservan durante 1 semana antes de informar un resultado negativo cuando no se observa ningún CPE. De esto se deriva que el cultivo del virus es lento y es intensivo en trabajo.<sup>18</sup> Un método histoquímico que utilice línea celular genéticamente modificada (la prueba ELVIS®: [por el inglés de] Sistema Inducible de Virus Unido a Enzima) permite que las células infectadas con HSV cambien de color, lo cual puede visualizarse con un microscopio óptico.<sup>20</sup> El procedimiento ELVIS requiere de un mínimo de 16 horas para detectar HSV. Todos estos métodos requieren de una instalación para cultivo de células, y el tiempo de cultivo es crítico en el éxito del procedimiento.

Se ha informado que las pruebas de amplificación de ácido nucleico para la detección del ADN del HSV son más sensibles y rápidas que los métodos de cultivo de virus y detección de antígenos.<sup>21,22</sup> No obstante, estos requieren por lo general la extracción del ADN previo a la amplificación e instrumental especializado para el proceso. El Ensayo IsoAmp® HSV se basa en tecnología de Amplificación Dependiente de Helicasa (HDA) y un dispositivo de detección de flujo lateral descartable.<sup>23-25</sup> Aunque el Ensayo IsoAmp® HSV es fácil de usar (complejidad moderada) y no requiere instrumental costoso, no distingue HSV-1 de HSV-2.

El Ensayo AmpliVue HSV 1+2 detecta y diferencia el ADN de HSV-1 y HSV-2 mediante una reacción HDA que a la vez amplifica una secuencia específica de HSV-1 y una secuencia específica de HSV-2 en presencia de una secuencia de control interno. Luego se detectan los amplicones mediante una tira de detección de ADN de tres líneas insertada en un cartucho a prueba de contaminación cruzada.<sup>26-29</sup> Se diluye una muestra clínica en un Tubo de Dilución y se

agrega al reactivo de amplificación liofilizado en un Tubo de Reacción. Pasados 45 minutos de amplificación a temperatura constante, el Tubo de Reacción se inserta en el Cartucho de detección descartable, en donde se captura el ADN de HSV-1 y HSV-2 mediante sondas de detección específicas, que resulta en una línea de color que puede leerse visualmente. Los resultados están listos en aproximadamente una hora de haber obtenido las muestras y no requieren de instrumentación compleja.

#### PRINCIPIO DEL ENSAYO

El Ensayo AmpliVue HSV 1+2 consta de tres pasos principales: (1) preparación de la muestra (dilución en un paso), (2) Amplificación isotérmica dependiente de helicasa (HDA) de los amplicones diana específicos para HSV-1 y HSV-2, y (3) detección del ADN amplificado con sondas de hibridación específicas para cada diana mediante una reacción colorimétrica en una tira de flujo lateral, que está dentro de un Cassette independiente descartable para impedir la contaminación del amplicón.<sup>26-29</sup>

La preparación de la muestra comprende un paso de dilución simple en el que las muestras se diluyen 80 veces en medios de transporte viral en Tubos de Dilución.

La muestra diluida se transfiere al Tubo de Reacción de 0,2 mL que contiene reactivos de HDA liofilizados, dNTPS, cebadores y sondas. La incubación a 64°C durante 45 minutos resulta en la liberación del ADN del HSV y la amplificación isotérmica subsiguiente de la secuencia diana por cebadores específicos de HSV-1 y HSV-2. El ADN amplificado es detectado por un set de sondas de detección específicas incluidas en el Tubo de Reacción: la diana HSV-1 hibrida con dos sondas específicas marcadas con Biotina (BioTEG) y Digoxigenina (DIG) y la diana HSV-2 hibrida con dos sondas específicas marcadas con Biotina (BioTEG) y 6-carboxifluoresceína (6-FAM). Se incluye un control interno (IC) competitivo en el Tubo de Reacción para monitorear sustancias inhibitoras en las muestras clínicas, falla de reactivo o falla de dispositivo. La diana IC se amplifica por medio de cebadores específicos de HSV-2 e hibrida con la sonda HSV-2 marcada con Biotina y una sonda específica de IC marcada con 2,4-dinitrofenil (DNP-TEG).

La detección del ADN amplificado con sondas específicas se logra a través de Cassettes AmpliVue. Los Cassettes AmpliVue a prueba de contaminación cruzada cuentan con tiras de detección de ADN de flujo lateral revestidas con anticuerpos anti-DNP (línea C), anticuerpos anti-DIG (línea T1) y anticuerpos anti-FAM (línea T2). El amplicón de HSV-1 con sondas marcadas con BioTEG y DIG es capturado por anticuerpos anti-DIG en la Línea T1 y el amplicón de HSV-2 con sondas marcadas con BioTEG y FAM es capturado por anticuerpos anti-FAM en la Línea T2 mientras que el amplicón IC con sondas marcadas con BioTEG y DNP es capturado por anticuerpos anti-DNP en la Línea C. La Biotina en los complejos amplicón-sonda captura las partículas de color conjugadas con estreptavidina para conseguir la visualización y el resultado de la prueba se muestra en líneas de color notorias a simple vista.

Se informa un resultado positivo de HSV-1 (detección del ADN del HSV-1) cuando la línea T1 se hace visible a través de la ventana de detección del Cassette, mientras que se informa un resultado positivo de HSV-2 (detección del ADN de HSV-2) cuando a través de la ventana de detección del Cassette se hace visible la línea T2. Un resultado positivo para ambos HSV-1 y HSV-2 (detección del ADN de ambos HSV-1 y HSV-2) se informa cuando se hacen visibles tanto la línea T1 como la línea T2 a través de la ventana de detección del Cassette. Se informa un resultado negativo (sin detección de ADN de HSV-1 o HSV-2) cuando únicamente la Línea C se hace visible. El resultado del ensayo se considera inválido cuando no se muestran la línea T1, la línea T2 ni la línea C. En dicho caso, el ensayo debería repetirse.

## MATERIALES PROVISTOS

Cat. #M210

16 pruebas por Kit

Componente	Cantidad	Almacenamiento
Cassette de Detección Parte 1185001	16/kit	2°C a 30°C
Cartucho Amplicón Parte 1215400	16/kit	2°C a 30°C
Tubo de Dilución Parte M5106	16 tubos/kit, 1,6 mL	2°C a 8°C
Tubo de Reacción Parte M5107	16 tubos/kit	2°C a 8°C

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTOS

- Medio de transporte viral:  
*Los siguientes medios de transporte fueron sometidos a prueba y se verificó el rendimiento del ensayo con respecto a los mismos:*  
Remel M4, Remel M5, Remel M4RT, Medios de Transporte Viral Universal BD y VTM Bartels.
- Controles externos positivos de HSV-1 y HSV-2 (es decir, muestras de pacientes positivos en HSV-1 o HSV-2; o Cepa de Virus Herpes Simplex Tipo 1 de NATtrol: MacIntyre y Cepa de Virus Herpes Simplex Tipo 2 de NATtrol: MS (Zeptomatrix Corporation); o el Set de Control de Quidel Molecular HSV1/2+VZV #M109 que sirve como control externo de ensayo).
- Termómetro
- Puntas de pipeta estériles sin ADNsa con filtro o descartables.
- Pipetas del tamaño adecuado
- Guantes descartables
- Cronómetro o temporizador
- Tijera o cuchilla
- Bloque térmico con tapa térmica con capacidad calorífica de 64°C ± 2°C.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- No utilice reactivos con fecha de caducidad vencida.
- No intercambie las tapas de los reactivos ya que puede ocurrir contaminación y afectar los resultados de las pruebas.
- Los tubos deben abrirse solamente cuando se agreguen o extraigan alícuotas de los tubos. A excepción de estos dos momentos, mantenga los tubos siempre cerrados para evitar contaminación.
- Para evitar que el ambiente se contamine con amplicones de HSV, no abra los tubos de reacción después de la amplificación.
- Evite la contaminación microbiológica y con desoxirribonucleasa (ADNsa) de los reactivos cuando extraiga alícuotas de los tubos. Se recomienda el uso de puntas de pipetas desechables y estériles, sin ADNsa y con filtro.
- Utilice una nueva punta de pipeta para cada muestra o reactivo.
- Realizar el ensayo fuera de los intervalos de tiempo recomendados puede generar resultados inválidos. Los ensayos que no se completen dentro de los intervalos de tiempo especificados deberán repetirse.
- En aquellos casos donde el laboratorio lleve a cabo pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tubo abierto en la misma área general, se deberían utilizar superficies de trabajo separadas o segregadas para actividades de preparación de muestras y de amplificación/detección. Tanto los suministros como el equipo deberían estar asignados a cada área y no ser movidos de una a otra. Se deben usar guantes en todo momento, y se los debe cambiar cuando se cambie de área. Se deben cambiar los guantes antes de manipular los reactivos.
- Trate todas las muestras como si fueran infecciosas y conforme a los procedimientos de seguridad en laboratorio según se describe en Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories del CDC<sup>32</sup> y en Documento M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections del CLSI.<sup>33</sup>
- Utilice ropa de protección adecuada y guantes desechables cuando utilice los reactivos del kit. Lávese las manos minuciosamente después de realizar la prueba.
- No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
- Deseche los reactivos que no haya utilizado y los residuos de acuerdo con reglamentaciones federales,

provinciales, estatales y locales correspondientes.

- Limpie minuciosamente y desinfecte todas las superficies con una solución de lavandina al 10%, seguida de agua de calidad para biología molecular.
- Lavarse bien las manos después de manipular el kit.
- Para obtener información adicional sobre los símbolos de peligro, seguridad, manejo y desecho de los componentes dentro de este kit, por favor consulte la Hoja de Datos de Seguridad (SDS) situado en [quidel.com](http://quidel.com).

## ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD

### Muestras de HSV

- Se han sometido a prueba los siguientes medios de transporte y se verificó el rendimiento de ensayo respecto de los mismos: Remel M4, Remel M5, Remel M4RT, Medios de Transporte Viral Universal BD /UTM Copan y VTM Bartels.
- Los hisopados recogidos de lesiones pueden conservarse en el medio de transporte viral a una temperatura de 2°C a 8°C por hasta 5 días antes de someterse a prueba. Los hisopados también pueden conservarse a -70°C o menos para conservación a largo plazo.
- Proteja las muestras de la exposición al calor excesivo.

### Reactivos

- Conserve los reactivos del ensayo y los cassettes de detección tal como se indica en las etiquetas de cada uno.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

### Preparación de Muestras

1. 15 minutos antes del paso de amplificación, caliente un bloque térmico con una tapa térmica a 64 °C ±2°C.
2. Coloque la cantidad necesaria de Tubos de Dilución en una gradilla. Identifique los Tubos de Dilución en la tapa y/o costado del Tubo.  
**Nota:** Se requiere un (1) Tubo de Dilución para cada muestra y control que se someta a prueba.
3. Desprenda material de muestra presente en el hisopado agitando el tubo de transporte vigorosamente (es decir, colocándolo en un agitador vórtex).
4. Transfiera 20 µL de cada muestra clínica del tubo original de recolección o control que se someterá a prueba hacia un Tubo de Dilución identificado (tapa azul). Cierre la tapa y mezcle bien la solución invirtiendo el tubo al menos 5 veces.  
**Nota:** Utilice una nueva punta de pipeta para cada muestra.  
**Nota:** La muestra o control diluidas pueden conservarse a temperatura ambiente (20°C a 25°C) durante 1 hora; a 2°C hasta 8°C durante 8 horas y durante 1 mes a -20°C hasta -70°C.

### Amplificación

1. Coloque la misma cantidad de Tubos de Reacción en una gradilla. Identifique los Tubos de Reacción en la tapa y/o costados del Tubo.  
**Nota:** Quite la cantidad necesaria de Tubos de Reacción de la bolsa protectora, elimine el aire en exceso y vuelva a sellar la bolsa.  
**Nota: Los siguientes pasos (2-3) DEBEN realizarse sin pausa.**
2. Transfiera 50 µl de la muestra o control diluida a los Tubos de Reacción rotulados correspondientes, mezcle la solución. Para ello, deberá pipetear hacia arriba y hacia abajo, de 3 a 5 veces. Cierre la tapa. La solución debería ser clara, libre de material sólido.  
**Nota:** Utilice una nueva punta de pipeta para cada muestra diluida.
3. Incube los Tubos de Reacción a 64 °C ± 2 °C durante 45 minutos ± 5 minutos en un bloque térmico con una tapa térmica.  
**Nota:** Asegúrese de que todos los tubos estén en contacto con el bloque térmico.  
**Nota:** Para evitar la contaminación en laboratorio, una vez que esté cerrado, comenzada la reacción de amplificación, **NO** abra el Tubo de Reacción

### Detección

1. Abra un paquete con Cassette de Detección. Etiquete el Cassette según corresponda. Asegúrese de que la ampolla con la solución tampón esté colocada en el Cartucho Amplicón.
2. Coloque el Tubo de Reacción en el Cartucho Amplicón (Figura 1, paso 1). Asegúrese de colocar la BISAGRA de la tapa del Tubo de Reacción en el espacio más grande contiguo a la ampolla de tampón.  
**Nota:** Asegúrese de que la ampolla con solución tampón continúe sujeta al Cartucho Amplicón.
3. Cierre el Cartucho Amplicón (Figura 1, paso 2). El ruido a chasquido es la señal de que cerró bien.

**Nota:** Si no se produce el chasquido, reposicione el tubo dentro del cartucho.

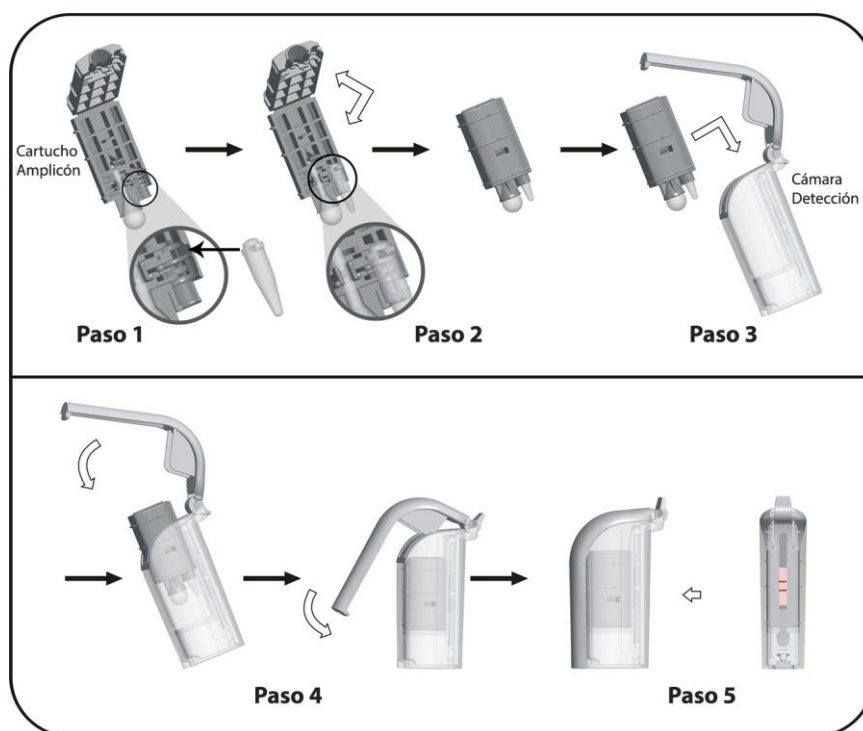
4. Inserte el Cartucho Amplicón cerrado en la Cámara de detección (Figura 1, paso 3). Asegúrese de que la flecha que se encuentra en la parte superior del Cartucho Amplicón apunte a la tira de detección (el Tubo de Reacción debería estar alineado con la cuchilla y la ampolla de plástico que contiene el tampón de corrida debería estar alineada con la aguja).
5. Mantenga el dispositivo en posición vertical y presione el asa del contenedor exterior para cerrar el dispositivo (Figura 1, paso 4). El asa quedará asegurada cuando se cierre por completo (Figura 1, paso 5).
6. Espere 15 minutos y lea los resultados. Los resultados permanecen estables durante 60 minutos después de cerrado el Cassette.

**Nota:** Cuando no haya flujo líquido en la tira de detección, suavemente golpee el Cassette sobre la superficie de trabajo para iniciar el flujo y lea los resultados tras 15 minutos.

7. Deseche las Cámaras de Detección utilizadas en bolsas selladas siguiendo las normas de su laboratorio.

**Advertencia: NO** abra el Cassette de Detección AmpliVue después de usarlo. La apertura del Cassette después de haberlo usado puede provocar contaminación con los amplicones en el área de la prueba.

**Figura 1 Cassette de Detección**



#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

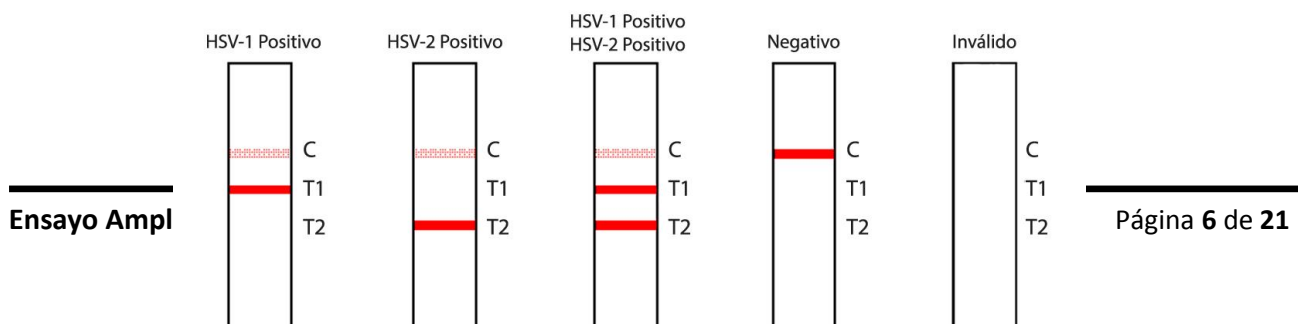
■ **Positivo:** Siempre lea primero las líneas de Prueba (T1 y T2).

- Cuando la línea T1 se hace visible, informe el resultado de ensayo como "ADN del HSV-1 detectado."
- Cuando la línea T2 se hace visible, informe el resultado de ensayo como "ADN de HSV-2 detectado."
- Cuando T1 y T2 se hacen visibles, informe resultado de ensayo como "HSV-1 y HSV-2 Positivo: ADN de HSV-1 y HSV-2 detectado."

■ **Negativo:** En ausencia de línea T visible (T1-/T2-), la línea C visible indica que el ADN de Control Interno ha sido amplificado y detectado, eliminando la posibilidad de un falso negativo debido a falla en la amplificación o falla del dispositivo y por tanto el resultado del ensayo debería informarse como negativo – "sin ADN de HSV detectado." La intensidad de la línea C puede variar con cada prueba. Cualquier línea visible de color rosado a rojo en el control significa que la prueba es válida.

**Inválido:** Si no están presentes las líneas T ni la línea C (T1-/T2-/C-), el ensayo es inválido y debe repetirse la prueba.

**Figura 2 Interpretación de los Resultados**



La interpretación de los resultados del ensayo se realiza conforme a los siguientes criterios:

Lectura de la Línea de Prueba 1 (T1)	Lectura de la Línea de Prueba 2 (T2)	Lectura de línea de Control (C)	Interpretación del resultado
T1+	T2–	C+ o C–	<b>HSV-1 Positivo:</b> ADN de HSV-1 detectado
T1–	T2+	C+ o C–	<b>HSV-2 Positivo:</b> ADN de HSV-2 detectado
T1+	T2+	C+ o C–	<b>HSV-1 y HSV-2 Positivo:</b> ADN de HSV-1 y HSV-2 detectado
T1–	T2–	C+	<b>Negativo:</b> Sin ADN de HSV-1 o HSV-2 detectados
T1–	T2–	C–	<b>Inválido:</b> Falla debido a espécimen inhibitor, falla de reactivo, o falla del dispositivo. Repetir prueba con muestra original.

**Nota:** La ausencia de la línea C (control) en conjunto con una línea de prueba positiva (ya sea T1, T2 o T1 y T2) significa que el material diana se amplificó correctamente. Esto se debe a la sobreabundancia de amplicones que genera competencia con las dianas del control interno.

#### CONTROL DE CALIDAD

El Ensayo AmpliVue HSV 1+2 incorpora varios controles para monitorear el rendimiento del ensayo.

1. Se incluye un control interno (IC) competitivo en el Tubo de Reacción para monitorear sustancias inhibitoras en muestras clínicas, fallas de reactivos o fallas de dispositivo.
2. Deberían utilizarse controles externos positivos de HSV-1 y HSV-2 disponibles en el mercado conforme a las normas propias del laboratorio. Pueden utilizarse muestras previamente caracterizadas como HSV-1 y HSV-2 positivas en ausencia de controles de HSV-1 y HSV-2 en el mercado.
3. Pueden utilizarse como control externo negativo los medios de transporte viral o muestras caracterizadas previamente como negativas. Esto debe tratarse como muestra de paciente y debería realizarse conforme a las normas vigentes de laboratorio.

**Nota:** Se recomienda verificar la reactividad de cada nuevo lote y cada nuevo cargamento del Ensayo AmpliVue HSV 1+2 al recibirlos y antes de su uso. Las pruebas de control externas deben realizarse de conformidad con los lineamientos federales, estatales y locales correspondientes. El Ensayo AmpliVue HSV1+2 no debe utilizarse para evaluar pacientes si los controles externos no arrojan resultados adecuados.

#### LIMITACIONES

- El Ensayo AmpliVue HSV1+2 se testeó únicamente en muestras de lesiones cutáneas y mucocutáneas de hombres y mujeres. No se evaluó el rendimiento con otros tipos de muestras. El dispositivo no cuenta con la autorización de la FDA para uso con líquido cefalorraquídeo (CSF).
- No está previsto que el ensayo se utilice para evaluación prenatal.
- Es posible que esta prueba no detecte coinfección de HSV-1 y HSV-2 en casos en los que los dos tipos de virus no estén igualmente representados en la muestra del hisopado.
- Como con muchas pruebas diagnósticas, los resultados del Ensayo AmpliVue HSV 1+2 deberían ser interpretados en conjunto con otros datos de laboratorio y clínicos que el médico tenga a su disposición.
- La viabilidad y/o infectividad del HSV no puede inferirse de un resultado positivo de la prueba ya que el ADN diana puede persistir en ausencia del virus infeccioso.
- Una prueba negativa no excluye la posibilidad de una infección porque los resultados de la prueba pueden estar afectados por la recolección, transporte o manipulación inadecuados de la muestra (recolección de muestras inadecuada), presencia de inhibidores, error técnico, confusión de muestras, terapia antiviral concurrente, o la

presencia de ADN insuficiente para detección.

- Los resultados del ensayo deberían ser interpretados por profesional de la salud capacitado en conjunto con la historia clínica del paciente, signos y síntomas clínicos y los resultados de otras pruebas diagnósticas.

#### RESULTADOS ESPERADOS

Se estimó la prevalencia de HSV-1 y HSV-2 con el Ensayo AmpliVue HSV 1+2 en muestras cutáneas (lesiones dérmicas, genital – pene), o mucocutáneas (anorectal, genital – vaginal/cervical, narinas, ocular, bucal y de uretra) para mil trescientas cuarenta y tres (1343) muestras con resultados válidos del Ensayo AmpliVue HSV 1+2. Siete (7) de las mil

trescientos cuarenta y tres (1343) muestras no se incluyeron en el análisis de rendimiento debido a contaminación o datos inválidos por el método de referencia.

Se calculó la prevalencia de HSV-1 y HSV-2 con el Ensayo AmpliVue HSV 1+2 para la totalidad de los sitios sobre la base de la edad del paciente y el origen específico de la muestra según se presenta a continuación.

Estudio Combinado – Prevalencia Cutánea por Edad						
Edad	HSV-1			HSV-2		
	Total	Total Positivo	Prevalencia	Total	Total Positivo	Prevalencia
≤ 5 años	37	2	5,4%	37	1	2,7%
6 a 21 años	68	13	19,1%	68	6	8,8%
22 a 59 años	225	20	8,9%	225	49	21,8%
≥ 60 años	70	5	7,1%	70	18	25,7%
	%	IC 95%		%	IC 95%	
Valor Predictivo Positivo	76,9%	88,6%-100%		79,5%	68,8%-87,1%	
Valor Predictivo Negativo	100%	94,6%-98,5%		99,7%	98,3%-99,9%	

Estudio Combinado – Prevalencia Cutánea por Origen Específico						
Origen	HSV-1			HSV-2		
	Total	Total Positivo	Prevalencia	Total	Total Positivo	Prevalencia
Lesión dérmica	271	27	10,0%	271	48	17,7%
Genital – pene	129	13	19,1%	129	26	20,2%

Estudio Combinado – Prevalencia Mucocutánea por Edad						
Edad	HSV-1			HSV-2		
	Total	Total Positivo	Prevalencia	Total	Total Positivo	Prevalencia
≤ 5 años	39	10	25,6%	39	1	2,6%
6 a 21 años	190	42	22,1%	190	34	17,9%
22 a 59 años	606	104	17,2%	606	132	21,8%
≥ 60 años	107	16	15,0%	107	17	15,9%
Sin dato	1	1	100%	1	0	0%
	%	IC 95%		%	IC 95%	
Valor Predictivo Positivo	87,1%	81,3%-91,3%		81,8%	75,5%-86,7%	
Valor Predictivo Negativo	98,7%	97,5%-99,3%		99,5%	98,6%-99,8%	

Estudio Combinado – Prevalencia Mucocutánea por Origen Específico						
Origen	HSV-1			HSV-2		
	Total	Total Positivo	Prevalencia	Total	Total Positivo	Prevalencia
Anorectal	35	2	5,7%	35	8	22,9%
Genital – vaginal/cervical	691	109	15,9%	691	168	24,3%
Nasal	16	5	31,3%	16	2	12,5%



Ocular	18	3	16,7%	18	1	5,6%
Lesión bucal	165	54	32,7%	165	2	1,2%
Uretral	18	0	S/D	18	3	16,7%

#### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

##### Rendimiento Clínico

El rendimiento del Ensayo AmpliVue HSV 1+2 fue evaluado en cinco lugares geográficamente diversos dentro de los Estados Unidos. Se sometieron a prueba un total de mil trescientas cincuenta y cinco (1355) muestras de pacientes sintomáticos hombres y mujeres. La población de los pacientes osciló entre  $\leq 5$  años a  $\geq 60$  años. Las muestras de

hisopados fueron clasificadas como cutáneas (lesiones dérmicas, genitales – pene) o mucocutáneas (lesiones anorectal, genital – vaginal/cervical, nasal, ocular, bucal y de uretra). Diecinueve (19) pruebas fueron consideradas inválidas y fueron eliminadas del análisis de rendimiento.

El cultivo viral ELVIS de referencia utilizado en este estudio fue incapaz de detectar muestras coinfectadas. Debido a este hecho, si una muestra arrojaba positivo para HSV-2, se la eliminaba del cálculo de rendimiento clínico para HSV-1. Doscientos once (211) muestras identificadas como HSV-2 positivo por ELVIS fueron eliminadas de las mil trescientas treinta y seis (1336) muestras iniciales. Los datos que se consignan a continuación corresponden a las mil ciento veinticinco (1125) muestras restantes.

Sitios Combinados – Lesiones Cutáneas para HSV-1 (N = 340)								
Método de Referencia					IC 95%			
Ensayo AmpliVue HSV 1+2		POS	NEG	Total	Sensibilidad	100%	88,6%	100%
	POS	30	9	39	Especificidad	97,1%	94,6%	98,5%
	NEG	0	301	301				
	Total	30	310	340				

Sitios Combinados – Lesiones Mucocutáneas para HSV-1 (N=785)								
Método de Referencia					IC 95%			
Ensayo AmpliVue HSV 1+2		POS	NEG	Total	Sensibilidad	94,9%	90,3%	97,4%
	POS	149	22	171	Especificidad	96,5%	94,8%	97,7%
	NEG	8	606	614				
	Total	157	628	785				

La tabla que se consigna a continuación muestra los resultados de HSV-2 para las mil trescientas treinta y seis (1336) muestras.

Sitios Combinados – Lesiones Cutáneas para HSV-2 (N=399)								
Método de Referencia						IC 95%		
Ensayo AmpliVue HSV 1+2		POS	NEG	Total	Sensibilidad	98,3%	91,0%	99,7%
	POS	58	15	73	Especificidad	95,6%	92,8%	97,3%
	NEG	1	325	326				
	Total	59	340	399				

Sitios Combinados – Lesiones Mucocutáneas para HSV-2 (N=937)								
Método de Referencia						IC 95%		
Ensayo AmpliVue HSV 1+2		POS	NEG	Total	Sensibilidad	97,4%	93,4%	99,0%
	POS	148	33	181	Especificidad	95,8%	94,2%	97,0%
	NEG	4	752	756				
	Total	152	785	937				

#### RENDIMIENTO ANALÍTICO

##### Precisión – Repetibilidad

Para el estudio de Precisión/Repetibilidad Intralaboratorio, se testeó un panel ciego de cuatro componentes consistente en muestras HSV-1 y HSV-2 de positivo medio y positivo bajo, negativo alto en 3x, 1x,  $\leq 0,3x$  el límite de detección (LOD), respectivamente, y muestras negativas, en triplicado por dos (2) operadores, dos veces al día (2x) durante doce (12) días en los tres instrumentos disponibles (testeó por triplicado x 2 operadores x 12 días = 72 resultados por nivel para cada virus). Los controles positivos y negativos se hicieron correr en triplicado con cada pasada de prueba. Los resultados del estudio de Precisión/Repetibilidad Intralaboratorio para el Ensayo AmpliVue HSV 1+2 realizado se presentan en las tablas que siguen.

Resumen Estudio de Repetibilidad para HSV-1			
Categoría	Tasa de Detección	Porcentaje General de Concordancia	Intervalo de Confianza del 95%
Negativo Alto para HSV 1+2	35/72	51%	40%-63%
Positivo Bajo para HSV-1	72/72	100%	95%-100%
Positivo Moderado para HSV 1+2	72/72	100%	95%-100%
Muestra Negativa para HSV-1	0/72	100%	95%-100%
Control Positivo para HSV-1+2	72/72	100%	95%-100%
Control Negativo del Ensayo	0/72	100%	95%-100%

Resumen Estudio de Repetibilidad para HSV-2			
Categoría	Tasa de Detección	Porcentaje General de Concordancia	Intervalo de Confianza del 95%
Negativo Alto para HSV 1+2	43/72	40%	30%-52%
Positivo Bajo para HSV-2	72/72	100%	95%-100%
Positivo Moderado para HSV 1+2	72/72	100%	95%-100%
Muestra Negativa para HSV-2	0/72	100%	95%-100%
Control Positivo para HSV-1+2	72/72	100%	95%-100%
Control Negativo del Ensayo	0/72	100%	95%-100%

##### Precisión/Reproducibilidad

La reproducibilidad del Ensayo AmpliVue HSV 1+2 se evaluó en tres sitios de prueba. Se evaluó la reproducibilidad empleando un panel consistente en cuatro componentes: Negativo Alto para HSV 1+2; Positivo Bajo para HSV-1;

Positivo Bajo para HSV-2; y Positivo Moderado para HSV 1+2. El componente Positivo Bajo para HSV-1 sirvió como componente Negativo para HSV-2 y el Positivo Bajo para HSV-2 sirvió como componente Negativo para HSV-1. Los componentes del panel fueron preparados en una Matriz Negativa de HSV que consistió en un "pool" de hisopados de la parte interna de mejilla negativos para HSV en un medio M4. La Matriz Negativa para HSV fue enriquecida con stocks virales de HSV1 y 2 cuantificados a concentraciones de TCID50 predeterminadas. El stock viral de HSV se diluyó en la Matriz Negativa de HSV a tres (3) niveles de concentración diferentes, definidos como componente Negativo Alto (0,3x el LOD), componente Positivo Bajo (1 x el LOD) y componente Positivo Moderado (3x el LOD).

Cada pasada testeó el panel de cuatro componentes por triplicado y también incluyó tres de cada control positivo HSV-1 + HSV-2, y control negativo. Dos (2) operadores en cada sitio de prueba hicieron correr una vez el panel de cuatro componentes más los controles por día de prueba durante cinco (5) días utilizando un lote del Ensayo AmpliVue HSV 1+2. Los resultados del estudio de Reproducibilidad para el Ensayo AmpliVue HSV 1+2 realizado en tres sitios se presentan en las tablas que siguen.

Resumen de Estudio de Reproducibilidad para HSV-1									
Categoría	Sitio						Tasa de Detección	% General de Concordancia	IC 95%
	Sitio No. 1		Sitio No. 2		Sitio No. 3				
	Tasa de detección	% de Concordancia	Tasa de Detección	% de Concordancia	Tasa de Detección	% de Concordancia			
Negativo Alto HSV 1+2	16/30	47%	9/30	70%	20/30	33%	45/90	50%	40%-60%
Positivo Bajo HSV-1	30/30	100%	29/30	97%	30/30	100%	89/90	99%	94%-100%
Positivo Moderado HSV 1+2	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96%-100%
Positivo Bajo HSV-2	0/30	100%	0/30	100%	0/30	100%	0/90	100%	96%-100%
Control Positivo HSV-1+2	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96%-100%
Control Negativo	0/30	100%	0/30	100%	0/30	100%	0/90	100%	96%-100%

Resumen de Estudio de Reproducibilidad para HSV-2									
Categoría	Sitio						Tasa de Detección	% General de Concordancia	IC 95%
	Sitio No. 1		Sitio No. 2		Sitio No. 3				
	Tasa de detección	% de Concordancia	Tasa de Detección	% de Concordancia	Tasa de Detección	% de Concordancia			
Negativo Alto HSV 1+2	20/30	33%	17/30	43%	13/30	57%	50/90	44%	35%-55%
Positivo Bajo HSV-2	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96%-100%
Positivo Moderado HSV 1+2	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96%-100%
Positivo Bajo HSV-1	0/30	100%	0/30	100%	0/30	100%	0/90	100%	96%-100%
Control Positivo HSV-1+2	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96%-100%

Control Negativo	0/30	100%	0/30	100%	0/30	100%	0/90	100%	96%-100%
------------------	------	------	------	------	------	------	------	------	----------

#### Especificidad Analítica/Reactividad Cruzada

Se realizó un estudio para evaluar el rendimiento del Ensayo AmpliVue HSV 1+2 en presencia de ochenta y nueve (89) microorganismos que pueden encontrarse en muestras de lesiones. Los componentes del panel se obtuvieron de proveedores en forma de ADN genómico purificado (GD) o cultivos cuantificados (QC) o se prepararon in planta (IHC) cultivando cada organismo y cuantificando el cultivo. Cada microorganismo en potencial interferencia o con reactividad cruzada se testeó en tres (3) duplicados en presencia de una matriz negativa o 3x el LOD para HSV-1 y HSV-2. Los niveles de virus y bacteria clínicamente relevantes normalmente son  $10^6$  ufc/ml o más, para bacteria, y  $10^5$  ufp/mL o más para virus. Se utilizó ADN o ARN purificado y cuantificado para nueve (9) de los microorganismos. Para estos microorganismos, se utilizaron  $10^6$  copias por ml (cp/ml) o más.

Ninguno de los ochenta y nueve (89) microorganismos que pueden encontrarse en muestras de lesiones mostraron interferencia o reactividad cruzada con el ensayo.

Panel de Reactividad Cruzada		
Microorganismo	Identificación (GD, QC, IHC)	Concentración analizada
<b>Bacteria (N=52)</b>		
<i>Acholeplasma laidlawi</i> PG8	QC	$7.1 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	QC	$9.80 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	IHC	$4.55 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Bacteroides fragilis</i> Z029	QC	$8.8 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	QC	$1.17 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Bordetella pertussis</i> E431	QC	$1.73 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i> VR-347	QC	$3.00 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i> D-UW3	QC	$7.83 \times 10^7$ CI/mL
ADN de <i>Chlamydia trachomatis</i> LGV-II 434	GD	$1.5 \times 10^7$ cp/mL
ADN de <i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	GD	$1.6 \times 10^6$ cp/mL
<i>Clostridium difficile</i> NAP1	QC	$6.77 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Clostridium perfringens</i> Tipo A	QC	$1.06 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	QC	$3.44 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Enterobacter cloacae</i> Z101	QC	$5.70 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Enterococcus faecalis</i> VSE	QC	$8.60 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Escherichia coli</i> ATCC 43895	QC	$1.13 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	IHC	$8.05 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Gardnerella vaginalis</i>	QC	$1.20 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Haemophilus influenzae</i> tipo A	QC	$4.00 \times 10^6$ ufc/mL
ADN de <i>Haemophilus ducreyi</i> Clase I	GD	$2.97 \times 10^6$ cp/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	QC	$9.75 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Lactobacillus acidophilus</i> Z048	QC	$2.00 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Legionella pneumophila</i>	QC	$1.42 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Mobiluncus curtisii</i> V125 [DSM 2711] ATCC 43063	QC	$3.2 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Mobiluncus mulieris</i> ATCC 35240	QC	$1.76 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Moraxella cartarrhalis</i> Ne11	QC	$9.90 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Mycoplasma hominis</i> LBD-4	QC	$1.30 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Mycoplasma hyorhinitis</i> BTS-7	QC	$6.6 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Mycoplasma orale</i> CH 19299	QC	$3.08 \times 10^6$ ufc/mL
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> M129	QC	$3.16 \times 10^6$ UCC/mL

Panel de Reactividad Cruzada		
Microorganismo	Identificación (GD, QC, IHC )	Concentración analizada
<i>Mycoplasma salivarium</i> H110	QC	1,67 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL

Panel de Reactividad Cruzada		
Microorganismo	Identificación (GD, QC, IHC)	Concentración analizada
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> Z017	QC	5,73 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo A	QC	7,07 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC 25845	QC	7,3 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Proteus mirabilis</i>	QC	1,19 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	QC	1,32 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Salmonella enteritidis</i>	QC	5,40 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Salmonella typhimurium</i>	QC	4,60 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	IHC	7,52 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Staphylococcus aureus</i> MSSA	IHC	7,02 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i> MRSE	IHC	1,75 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	QC	3,00 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Streptococcus agalactiae</i>	QC	2,20 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Streptococcus mitis</i>	QC	2,43 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Streptococcus mutans</i> Z072	QC	1,17 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	QC	2,8 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 9898	QC	6,38 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Streptococcus salivarius</i>	IHC	2,75 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Toxoplasma gondii</i>	QC	6,6 x 10 <sup>6</sup> taquizoítos/mL
<i>Treponema pallidum</i> Nichols	QC	2,0 x 10 <sup>6</sup> Tp/mL
<i>Trichomonas vaginalis</i> Z070	QC	1,65 x 10 <sup>6</sup> trofozoítos/mL
ADN de <i>Ureaplasma urealyticum</i> NCTC 10177	GD	1,23 x 10 <sup>6</sup> cp/mL
<b>Levadura (N=7)</b>		
<i>Candida albicans</i>	QC	2,00 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Candida glabrata</i> Z007	QC	9,73 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Candida guilliermondii</i> Z008	QC	9,96 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Candida krusei</i> Z009	QC	5,33 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Candida lusitanae</i> Z010	QC	6,56 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Candida parapsilosis</i> Z011	QC	1,24 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<i>Candida tropicalis</i> Z012	QC	1,0 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL
<b>Virus (N=30)</b>		
Gripe A/México/4108/2009 H1N1	QC	4,08 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Adenovirus 2	QC	1,02 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Adenovirus 7 VR-7	QC	1,58 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Coronavirus OC43 VR-1558	QC	2,42 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Coxsackievirus B4	QC	1,08 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Citomegalovirus AD-169	QC	9,55 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Echovirus 11 ODH-37285	QC	2,14 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Enterovirus Tipo 71	QC	1,00 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Virus Epstein-Barr B95-8	GD	2,22 x 10 <sup>5</sup> cp/mL
Gripe B Hong Kong VR-791	QC	9,53 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
Virus de Hepatitis B	QC	3,44 x 10 <sup>5</sup> UI/mL
Virus de Hepatitis C	QC	7,58 x 10 <sup>5</sup> UI/mL
HHV-8	QC	1,26 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL

Panel de Reactividad Cruzada		
Microorganismo	Identificación QD, QC, IHC)	Concentración analizada
ARN de HIV-1 Subtipo B	GD	$1,14 \times 10^5$ cp/mL
Metapneumovirus humano (Italia) A1	QC	$3,66 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
Virus Herpes 6 Humano cepa Z29	QC	$1,95 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
Virus Herpes 7 Humano cepa SB	QC	$1,15 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
ADN del virus del papiloma humano 16	GD	$4,3 \times 10^5$ cp/mL
ADN del virus del papiloma humano 18	GD	$1,8-3,6 \times 10^5$ cp/mL
Virus del sarampión	QC	$1,95 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
Virus de paperas	QC	$5,89 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
Parainfluenza Tipo 1 #2	QC	$3,97 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
Parainfluenza Tipo 2	QC	$3,15 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
Parainfluenza Tipo 3 NY14	QC	$2,36 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
Parainfluenza Tipo 4B VR-1377	QC	$1,37 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
VRS A Long VR-26	QC	$4,36 \times 10^4$ TCID <sub>50</sub> /mL
VRS B Washington VR-1401	QC	$3,43 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
Virus de la Rubéola	QC	$4,17 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
Virus Simian tipo 40 Pa-57 ATCC cepa VR-239	QC	$3,16 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL
ADN de VZV	GD	$1,5 \times 10^5$ cp/mL

#### Estudios de Interferencia

Se realizó este estudio para evaluar la posible interferencia con el Ensayo AmpliVue HSV 1+2 mediante un panel de treinta y tres (33) sustancias, cinco (5) medios diferentes de transporte viral y microorganismos del panel de reactividad cruzada que pueden estar presentes en muestras clínicas. Se realizó el estudio en presencia de HSV-1 y HSV-2 a nivel de 3x el LOD para evaluar la posible interferencia con la detección del HSV diana. También se realizó el estudio en ausencia de HSV para evaluar la posible interferencia con la detección del control interno del Ensayo AmpliVue HSV 1+2. Se testeó cada posible sustancia interferente por triplicado.

#### Sustancias Interferentes

El rendimiento analítico del Ensayo AmpliVue HSV 1+2 se caracterizó en presencia de sustancias interferentes a concentraciones potencialmente máximas ("el peor caso") para evaluar la susceptibilidad del ensayo de HSV a interferencias. Para obtener el "peor caso," cada sustancia interferente se introdujo en el ensayo directamente mojando un hisopo limpio y seco del kit Remel M4 con la sustancia y colocando el hisopo directamente en el medio de transporte. Las concentraciones calculadas se basan en un volumen estimado de 200 µL de sustancia introducida con el hisopo. Se testeó cada componente del panel por triplicado enriquecido con cepas HSV-1 HF y HSV-2 G de manera separada a 3x el LOD. También se testeó el panel por triplicado en ausencia del medio de transporte de HSV para ver si las sustancias potencialmente interferentes interferían con la detección del control interno. No se observó interferencia en presencia de las posibles sustancias interferentes testeadas.

Panel de Sustancias Interferentes	
Sustancia	Concentración analizada
Fluido Seminal	7%
Almidón de maíz	1,25 mg/mL
Acetaminofén	5 mg/mL
Materia fecal	7%
Ácido acetilsalicílico	10 mg/mL
Clorfeniramina	5 mg/mL
Dextrometorfano	10 mg/mL
Sangre entera con EDTA	7%
Orina de mujer	7%
Orina de hombre	7%

Panel de Sustancias Interferentes	
Sustancia	Concentración analizada
Aciclovir (Acicloguanosina)	7 mg/mL
Albúmina	3,3 mg/mL
Caseína	7 mg/mL
Gel lubricante K-Y Jelly	7%
Ducha	7%
Monistat 1	7%
Monistat 3	7%
Tioconazol 1	7%
Preparation H	7%
Lanacane	7%
Listerine	7%
Abreva	7%
Lápiz de manteca de cacao Carmex Cold Sore	7%
Tratamiento Releev para llagas	7%
Crest	7%
Mucina (glándula submaxilar de bovino, tipo I-S)	60 µg/mL
Capa leucoplaquetaria	7%
YeastGard	7%
Vagisil Crème	7%
Lip clear Lysine+	7%
Clotrimazol 3 Crema vaginal	7%
Loción Higiénica Balneol	7%
Gel vaginal anticonceptivo Ortho Options Gynol II Extra Strength	7%

#### *Medios de Transporte Viral*

Se evaluó el rendimiento del Ensayo AmpliVue HSV 1+2 con Remel M5, Remel M4RT, VTM Bartels y Transporte Viral Universal BD/UTM Copan. (Se había evaluado previamente Remel M4 y se encontró que no interfería con el ensayo). Se testeó cada medio una vez enriquecido con cepas HSV-1 HF y HSV-2 G hasta una concentración final de aproximadamente 3x el LOD para determinar si el medio de transporte viral interfiere con la detección de HSV diana en muestras positivas. Se testearon los medios en ausencia de HSV-1 y HSV-2 (solamente medio) para ver si los medios de transporte viral interfieren con la detección del control interno en muestras negativas.

No se observó interferencia con los medios Remel M4RT, Remel M5, VTM Bartels y UVT BD/UTM Copan en la detección de HSV-1 y HSV-2 diana o el control interno. Remel M4RT, Remel M5, VTM Bartels y UVT BD/UTM Copan no interfirieron con la detección de HSV-1 o HSV-2 diana o con el control interno.

#### *Componentes del Panel de Reactividad Cruzada*

Se caracterizó el rendimiento del Ensayo AmpliVue HSV 1+2 mediante el testeó de ochenta y siete (87) microorganismos que fueron evaluados en términos de especificidad analítica y reactividad cruzada en presencia de HSV-1 HF y HSV-2 G a 3x el LOD de manera separada para ver si la presencia de estos organismos interfiere con la detección del HSV diana. Se testeó cada componente de panel por triplicado. Ninguno de los componentes del panel de reactividad cruzada interfirió con la detección de HSV-1 y HSV-2 diana.

#### **Estabilidad de la Muestra**

Se realizó un estudio para confirmar la estabilidad de HSV-1 y HSV-2 en los medios de transporte viral conforme a las especificaciones recomendadas de almacenamiento y manipulación de cada medio testeado. Los cinco (5) medios detallados más arriba fueron enriquecidos con HSV-1 y HSV-2 a 3x el LOD y se conservaron a temperaturas de 2°C a 8°C o a -70°C. Se testearon los medios usando el Ensayo AmpliVue HSV 1+2 en momentos múltiples. Sobre la base de este estudio a 3x el LOD, HSV-1 y HSV-2 son estables en todos los cinco (5) medios durante 7 días a una temperatura de 2°C a 8°C y durante 34 días a -70°C.

Inhibición Competitiva: Se evaluó el rendimiento del Ensayo AmpliVue HSV 1+2 para determinar interferencia competitiva empleando muestras simuladas en dos estudios imitando coinfecciones. El primer estudio utilizado



simuló muestras con una diana a una concentración cercana al LOD (3x el LOD) y la otra diana, a concentraciones más altas (30x el LOD hasta 3000x el LOD). El segundo estudio utilizado simuló muestras que tenían iguales concentraciones del virus HSV-1 y del virus HSV-2 (3x el LOD hasta 3000x el LOD).

En el primer estudio, no se observó inhibición competitiva con muestras simuladas que contuvieran una diana a una concentración cercana al LOD (3x el LOD) y la otra diana a concentraciones de hasta 300x el LOD. No obstante, se observó inhibición competitiva para ambos HSV-1 y HSV-2 con muestras simuladas que contenían una diana a concentración cercana al LOD (3x el LOD) y la otra diana a 3000x el LOD.

En el segundo estudio, no se observó inhibición competitiva con muestras simuladas que contenían concentraciones iguales de virus HSV-1 y HSV-2, en un rango de 3x el LOD hasta 3000x el LOD.

#### Límite de Detección

Se realizó un estudio de Límite de Detección (LOD) para evaluar la sensibilidad analítica del Ensayo AmpliVue HSV 1+2 empleando dos cepas virales representativas de HSV-1 (McIntyre & HF) y dos cepas representativas de HSV-2 (G & MS). Se hicieron diluciones seriadas de cultivos cuantificados (TCID<sub>50</sub>/mL) de cepas de HSV-1 y HSV-2 a cinco (5) concentraciones en conjuntos de matriz negativa de HSV y se testearon en duplicados de diez (10) en tres lotes de reactivos. Se definió el LOD de la cepa HSV como el nivel de concentración más bajo con  $\geq 95\%$  de positividad. Se determinó el límite de detección observado para HSV-1 y HSV-2 en  $1,1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL y  $1,1 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/mL, respectivamente.

Resultados obtenidos con los Paneles para LOD de HSV					
Cepa	Concentración TCID <sub>50</sub> /mL	Positivo/Total	Tasa de positividad	95% CI	
HSV-1 McIntyre	$1,00 \times 10^6$	30/30	100%	88,65%	100%
	$3,33 \times 10^6$	30/30	100%	88,65%	100%
	$1,1 \times 10^5$	30/30	100%	88,65%	100%
	$3,70 \times 10^4$	24/30	80,0%	62,69%	90,50%
	$1,23 \times 10^4$	8/30	26,7%	14,18%	44,45%
HSV-1 HF	$1,00 \times 10^6$	30/30	100%	88,65%	100%
	$3,33 \times 10^5$	30/30	100%	88,65%	100%
	$1,11 \times 10^5$	30/30	100%	88,65%	100%
	$3,70 \times 10^4$	23/30	76,7%	59,07%	88,21%
	$1,23 \times 10^4$	9/10	30,0%	16,66%	47,88%
HSV-2 G	$1,00 \times 10^5$	30/30	100%	88,65%	100%
	$3,33 \times 10^4$	30/30	100%	88,65%	100%
	$1,11 \times 10^4$	29/30	100%	88,30%	100%
	$3,70 \times 10^3$	28/30	93,3%	78,68%	98,15%
	$1,23 \times 10^3$	24/30	73,3%	55,55%	85,82%
HSV-2 MS	$1,00 \times 10^5$	30/30	100%	88,65%	100%
	$3,33 \times 10^4$	30/30	100%	88,65%	100%
	$1,11 \times 10^4$	30/30	100%	88,65%	100%
	$3,70 \times 10^3$	30/30	100%	88,65%	100%
	$1,23 \times 10^3$	27/30	90%	74,38%	96,54%

Se confirmó el LOD con las dos (2) mismas cepas de HSV-1 y las dos (2) mismas cepas de HSV-2 de referencia diluidas al LOD observado y testeado con veinte (20) duplicados utilizando tres (3) lotes del Ensayo AmpliVue HSV 1+2. Dado que todas las cepas de HSV-1 y HSV-2 evidenciaron tasas de positividad de  $\geq 95\%$  con los tres (3) lotes de validación, se confirma el LOD observado para ambos HSV-1 y HSV-2.

Testeo de Aislados Clínicos: Además, se cultivaron y cuantificaron veinte (20) aislados clínicos de HSV-1 y veinte (20) aislados clínicos de HSV-2 en TCID<sub>50</sub>/mL. Se diluyó cada aislado al correspondiente LOD en una matriz negativa de HSV y se testeó por triplicado. El Ensayo AmpliVue HSV 1+2 pudo detectar los 20 aislados clínicos de HSV-1 y los 20 aislados clínicos de HSV-2 en su totalidad.

LOD del Ensayo: La afirmación del LOD final de ensayo es  $1,1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL para HSV-1 y de  $1,1 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/mL para HSV-2.

#### Contaminación de Arrastre/Cruzada

Los resultados de la prueba confirman que no hay contaminación de arrastre o cruzada para el Ensayo AmpliVue HSV 1+2. Se testearon muestras positivas altas para HSV-1 (HSV-2) en series alternando con muestras negativas. De modo de poner a prueba al dispositivo, un stock viral cultivado y cuantificado sirvió como muestra positiva alta. Se utilizaron stocks virales de HSV-1 HF ( $7,96 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/mL) y de HSV-2 G ( $2,27 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>/mL) directamente sin dilución, para alcanzar la máxima concentración disponible. Se utilizó medio de transporte viral Remel M4 como muestra negativa. Se hicieron correr diez (10) duplicados de muestra negativa junto a controles de ensayo a cargo de dos (2) operadores, a fin de confirmar que las muestras negativas (medio de transporte viral Remel M4) generan un resultado negativo el 100% del tiempo. Se testeó cinco (5) duplicados de muestras positiva de alta concentración y negativa en serie, alternando tipos de muestras. La totalidad de muestras positivas altas de HSV-1 y HSV-2 arrojó resultados positivos y todas las muestras negativas arrojaron resultados negativos en HSV.

#### DISPOSICIÓN

La disposición o desecho de materiales peligrosos o biológicamente contaminados se realizará acorde a las prácticas de su institución.

#### ATENCIÓN AL CONSUMIDOR Y ASISTENCIA TÉCNICA

Para hacer un pedido o solicitar servicio técnico, póngase en contacto con un representante de Quidel llamando al 800 874-1517 (teléfono en los EE. UU.) o al 858 552-1100 (para afuera de los Estados Unidos), de lunes a viernes, de 8:00 a.m. a 5:00 p.m. hora de la costa este de Estados Unidos. También pueden realizarse pedidos por fax al 740 592- 9820. Para solicitar asistencia por correo electrónico, envíe mensaje a [customerservice@quidel.com](mailto:customerservice@quidel.com) o [technicalsupport@quidel.com](mailto:technicalsupport@quidel.com). Para obtener asistencia fuera de los Estados Unidos, póngase en contacto con su distribuidor local. Puede obtener información adicional sobre Quidel, nuestros productos y nuestros distribuidores en nuestro sitio web: [quidel.com](http://quidel.com).

#### REFERENCIAS

1. Cusini, M. and M. Ghislanzoni. The importance of diagnosing genital herpes. *J Antimicrob Chemother*, 2001. 47 Suppl T1: p. 9-16.
2. Yeung-Yue, K.A., et al. Herpes simplex viruses 1 and 2. *Dermatologic clinics*, 2002. 20(2): p. 249-266.
3. Roberts, S. Herpes simplex virus: incidence of neonatal herpes simplex virus, maternal screening, management during pregnancy, and HIV. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2009. 21(2): p. 124-30.
4. Koelle, D.M. and A. Wald. Herpes simplex virus: the importance of asymptomatic shedding. *J Antimicrob Chemother*, 2000. 45 Suppl T3: p. 1-8.
5. Brown, Z.A., et al. Neonatal herpes simplex virus infection in relation to asymptomatic maternal infection at the time of labor. *N Engl J Med*, 1991. 324(18): p. 1247-52.
6. Koutsky, L.A., et al. The frequency of unrecognized type 2 herpes simplex virus infection among women. Implications for the control of genital herpes. *Sex Transm Dis*, 1990. 17(2): p. 90-4.
7. Mertz, G.J., et al. Transmission of genital herpes in couples with one symptomatic and one asymptomatic partner: a prospective study. *J Infect Dis*, 1988. 157(6): p. 1169-77.
8. Mertz, G.J., et al. Frequency of acquisition of first-episode genital infection with herpes simplex virus from symptomatic and asymptomatic source contacts. *Sex Transm Dis*, 1985. 12(1): p. 33-9.
9. Amir, J., et al. The natural history of primary herpes simplex type 1 gingivostomatitis in children. *Pediatr Dermatol*, 1999. 16(4): p. 259-63.
10. Spruance, S.L., et al. The natural history of recurrent herpes simplex labialis: implications for antiviral therapy. *N Engl J Med*, 1977. 297(2): p. 69-75.
11. Wald, A. and L. Corey, Persistence in the population: epidemiology, transmission. 2007.
12. Xu, F., et al. Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA*, 2006. 296(8): p. 964-73.
13. Lafferty, W.E., et al. Herpes simplex virus type 1 as a cause of genital herpes: impact on surveillance and prevention. *J Infect Dis*, 2000. 181(4): p. 1454-7.
14. Lowhagen, G.B., et al. First episodes of genital herpes in a Swedish STD population: a study of epidemiology and transmission by the use of herpes simplex virus (HSV) typing and specific serology. *Sex Transm Infect*, 2000. 76(3): p. 179-82.

15. Vyse, A.J., et al. The burden of infection with HSV-1 and HSV-2 in England and Wales: implications for the changing epidemiology of genital herpes. *Sex Transm Infect*, 2000. 76(3): p. 183-7.
16. Mertz, G.J., S.L. Rosenthal, and L.R. Stanberry. Is herpes simplex virus type 1 (HSV-1) now more common than HSV-2 in first episodes of genital herpes? *Sex Transm Dis*, 2003. 30(10): p. 801-2.
17. Ross, J.D., I.W. Smith, and R.A. Elton. The epidemiology of herpes simplex types 1 and 2 infection of the genital tract in Edinburgh 1978-1991. *Genitourin Med*, 1993. 69(5): p. 381-3.
18. Scoular, A. Using the evidence base on genital herpes: optimising the use of diagnostic tests and information provision. *Sex Transm Infect*, 2002. 78(3): p. 160-5.
19. Aurelian, L. Herpes simplex viruses, in *Clinical virology manual*, S. Spector and G. Lancz, Editors. 1992, Elsevier: Amsterdam. p. 473 - 499.
20. Stabell, E.C., et al. Evaluation of a genetically engineered cell line and a histochemical beta-galactosidase assay to detect herpes simplex virus in clinical specimens. *J Clin Microbiol*, 1993. 31(10): p. 2796-8.
21. Filen, F., et al. Duplex real-time polymerase chain reaction assay for detection and quantification of herpes simplex virus type 1 and herpes simplex virus type 2 in genital and cutaneous lesions. *Sex Transm Dis*, 2004. 31(6): p. 331-6.
22. Koenig, M., et al. Comparison of Light-Cycler PCR, enzyme immunoassay, and tissue culture for detection of herpes simplex virus. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2001. 40(3): p. 107-10.
23. Miller, N. et al. Comparative clinical evaluation of the IsoAmp® HSV Assay with ELVIS® HSV culture/ID/typing test system for the detection of herpes simplex virus in genital and oral lesions. *J Clin Virol*. 2012. 54(4):355-8.
24. An, L., et al. Characterization of a thermostable UvrD helicase and its participation in helicase-dependent amplification. *J Biol Chem*, 2005. 280(32): p. 28952-8.
25. Vincent, M., Y. Xu, and H. Kong. Helicase-dependent isothermal DNA amplification. *EMBO Rep*, 2004. 5(8): p. 795-800.
26. Chow, W.H., et al. Application of isothermal helicase-dependent amplification with a disposable detection device in a simple sensitive stool test for toxigenic *Clostridium difficile*. *J Mol Diagn*, 2008. 10(5): p. 452-8.
27. Goldmeyer, J., et al. Identification of *Staphylococcus aureus* and determination of methicillin resistance directly from positive blood cultures by isothermal amplification and a disposable detection device. *J Clin Microbiol*, 2008. 46(4): p. 1534-6.
28. Motre, A., R. Kong, and Y. Li. Improving isothermal DNA amplification speed for the rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Microbiol Methods*, 2011. 84(2): p. 343-5.
29. Tang, W., et al. Nucleic acid assay system for tier II laboratories and moderately complex clinics to detect HIV in low- resource settings. *J Infect Dis*, 2010. 201 Suppl 1: p. S46-51.
30. Chosewood, C.L. and D.E. Wilson, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. 2009, U.S. Department of Health and Human Services. 438.
31. Clinical and Laboratory Standard Institute. *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Third Edition* CLSI document M29-A3 [ISBN 1-56238-567-4]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.
32. Clinical and Laboratory Standard Institute. *Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; Approved Guideline – Third Edition* CLSI document C24-A3 [ISBN 1-56238-613-1]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.

REF

M210 – Ensayo AmpliVue HSV 1+2

IVD



EC REP

MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover,  
Germany



**Quidel Corporation**  
2005 East State Street, Suite 100  
Athens, OH 45701 USA  
[quidel.com](http://quidel.com)

**PIM210001ES00 (12/15)**

**REF**

Número del catálogo



Marca CE de conformidad

---

**EC REP**

Representante Autorizado  
en la Comunidad Europea

**LOT**

Código de lote

---



Usar antes de



Fabricante

---



Limites de temperatura



IUso Previsto

---

**R<sub>x</sub> ONLY**

Uso bajo receta solamente



Consulte etiquetado electrónico para  
instrucciones de uso

---

**IVD**

Para uso diagnóstico *in vitro*



Contiene una cantidad suficiente para  
16 determinaciones

---

**CONT**

Contenido / Contiene

---