

Test Aptima™ Chlamydia trachomatis

Do diagnostyki *in vitro*.

Tylko na eksport poza USA.

Informacje ogólne	2
Przeznaczenie	2
Podsumowanie i objaśnienie testu	2
Zasady procedury	3
Ostrzeżenia i środki ostrożności	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi	7
Pobieranie i przechowywanie próbek	8
Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent	38
Ograniczenia	41
Wyniki badania klinicznego	43
Wartości oczekiwane w systemie DTS	44
Skuteczność kliniczna systemu DTS	47
Skuteczność analityczna systemu DTS	62
Zgodność próbek klinicznych systemu Tigris DTS	66
Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS	69
Skuteczność analityczna systemu Panther	72
Bibliografia	75

Systemy DTS™

Systemy DTS	11
Dostarczone odczynniki i materiały	11
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	12
Materiały opcjonalne	13
Procedura testu w systemach DTS	14
Uwagi dotyczące procedury	20

Tigris™ DTS™

System Tigris DTS	24
Dostarczone odczynniki i materiały	24
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	26
Materiały opcjonalne	27
Procedura testu w systemie Tigris DTS	27
Uwagi dotyczące procedury	30

Panther™

Panther System	31
Dostarczone odczynniki i materiały	31
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	32
Materiały opcjonalne	33
Procedura testu w Panther System	33
Uwagi dotyczące procedury	36

Informacje ogólne

Przeznaczenie

Test Aptima™ *Chlamydia trachomatis* to test z sondą kwasu nukleinowego z amplifikacją cząsteczek szukanych, który wykorzystuje wychwytywanie cząsteczek szukanych do jakościowego wykrywania rybosomalnego RNA (rRNA) *Chlamydia trachomatis* (CT) in vitro w celu wspomaganego diagnostyki chlamydialnych chorób układu moczowo-płciowego przy użyciu systemu Tigris DTS lub systemu Panther lub przy użyciu półautomatycznego oprzyrządowania systemów DTS, zgodnie z opisem. Test może być stosowany do badania następujących próbek pobranych od osób z objawami: pobrane przez lekarza próbki wymazu z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej oraz próbki moczu kobiet i mężczyzn. Test może być stosowany do badania następujących próbek pobranych od osób bez objawów: pobrane przez lekarza próbki wymazu z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej; pobrane przez pacjentki próbki wymazu z pochwy¹; oraz próbki moczu kobiet i mężczyzn. Ten test jest również przeznaczony do stosowania w badaniach próbek ginekologicznych, zarówno od pacjentów z objawami, jak i bezobjawowych. Próbki z kanału szyjki macicy pobrane do fiolek z roztworem PreservCyt™ mogą być badane zarówno przed, jak i po wykonaniu Pap. Badanie próbek przetworzonych po wykonaniu Pap jest ograniczone tylko do próbek przetworzonych przy użyciu Systemu ThinPrep™ 2000.

¹Próbki wymazu z pochwy pobrane przez pacjentki są opcją dla badań przesiewowych kobiet, gdy nie ma innych wskazań do badania miednicy. Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest nie jest przeznaczony do użytku domowego.

Podsumowanie i objaśnienie testu

Zakażenia *Chlamydia trachomatis* są jednym z najczęstszych zakażeń przenoszonych drogą płciową na świecie. W samych Stanach Zjednoczonych w 2019 roku do Centrów Kontroli Chorób zgłoszono szacunkowo 1 808 703 nowych przypadków (552,8 przypadku na populację 100 000 osób) zakażeń CT (5).

Bakterie z rodzaju Chlamydiae są nieruchliwymi, Gram-ujemnymi, zamkniętymi bakteriami wewnątrzkomórkowymi. Gatunek CT składa się z piętnastu serotypów (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 i L3), które mogą wywoływać choroby u ludzi (29). Serotypy od D do K są główną przyczyną zakażeń chlamydiami narządów płciowych u mężczyzn i kobiet (21). *C. trachomatis* może powodować niegonokokowe zapalenie cewki moczowej, zapalenie najądrzy, zapalenie prostaty, zapalenie szyjki macicy, ostre zapalenie jajowodów i zapalenie narządów miednicy (3, 13, 23, 24). Zakażenia *C. trachomatis* są często bezobjawowe, zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Dzieci urodzone przez zakażone matki są znacznie bardziej narażone na inkluzyjne zapalenie spojówek i chlamydialne zapalenie płuc (1, 10, 22).

W przeszłości w laboratoriach klinicznych stosowano kilka metod wykrywania CT, w tym hodowle komórkowe, bezpośrednie fluorescencyjne oznaczanie przeciwciał i testy immunoenzymatyczne. Nowsze metody wykrywania CT obejmują testy z bezpośrednim sondowaniem DNA oraz testy amplifikacji kwasów nukleinowych (NAAT). Hodowla komórkowa była kiedyś uważana za „złoty standard” w wykrywaniu CT. Hodowla jest dość specyficzna, ale najnowsze publikacje wykazały, że NAAT ma wyższą czułość kliniczną niż hodowla (2, 8, 14, 25). Ze względu na niższą czułość kliniczną i zróżnicowane wyniki w różnych laboratoriach, hodowla została zastąpiona w wielu laboratoriach przez bezpośrednią sondę DNA i NAAT.

W przypadku NAAT pierwszej generacji do wykrywania CT występują problemy technologiczne, które ograniczały ich działanie. Problemy te obejmują uciążliwe przetwarzanie próbek oraz ich inhibicję, co może prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych (6, 12, 15, 20, 26, 28). Test Aptima *Chlamydia trachomatis* (Test Aptima CT) jest testem NAAT drugiej generacji, który wykorzystuje technologie wychwytywania cząsteczek szukanych, amplifikacji

z mediacją transkrypcji (TMA™) oraz testu ochrony hybrydyzacji (test HPA) w celu usprawnienia procesu przetwarzania próbek, amplifikacji szukanego rRNA oraz wykrywania amplikonu. Badania porównujące skuteczność i inhibicję próbki różnych systemów amplifikacji wykazały zalety wychwytywania cząsteczek szukanых, TMA i HPA (7, 11).

Według wytycznych dotyczących badań przesiewowych *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* z 2002 roku, CDC zaleca kilka opcji dla kontynuacji działań po dodatnim teście przesiewowym „jeśli można oczekiwać niskiej dodatniej wartości predykcyjnej lub jeśli fałszywie dodatni wynik miałby poważne konsekwencje psychospołeczne lub prawne” (4). Jedną z tych opcji dodatkowego testowania może być inny test amplifikacji kwasu nukleinowego, zatwierdzony przez FDA, ukierunkowany na inną sekwencję kwasu nukleinowego niż test początkowy. Test Aptima CT jest ukierunkowany na inne sekwencje kwasów nukleinowych niż te, na które ukierunkowane są inne testy NAAT w kierunku *C. trachomatis*, w tym test Aptima Combo 2.

Zasady procedury

Test Aptima CT łączy w sobie technologie wychwytywania cząsteczek szukanых, TMA i HPA.

Próbki są pobierane i przenoszone do odpowiednich probówek przeznaczonych do ich transportu. Roztwór transportowy w tych probówkach uwalnia szukane rRNA i chroni je przed degradacją podczas przechowywania. Jeśli test Aptima CT jest wykonywany w warunkach laboratoryjnych, szukana cząsteczka rRNA jest izolowana z próbek przy użyciu oligomeru wychwytyjącego drogą wychwytywania cząsteczek szukanых poprzez wykorzystanie mikrocząsteczek magnetycznych. Oligomer wychwytyjący zawiera sekwencję komplementarną do określonego regionu cząsteczek szukanых, a także ciąg reszt deoksyadenozyny. Podczas etapu hybrydyzacji region specyficzny dla sekwencji oligomeru wychwytyjącego wiąże się z określonymi regionami cząsteczek szukanых. Następnie kompleks oligomer odpowiedzialny za wychwyt:cząsteczka szukana jest wychwytywany z roztworu dzięki obniżeniu temperatury reakcji do temperatury pokojowej. Ten spadek temperatury umożliwia hybrydyzację między obszarem deoksyadenozyny oligomeru odpowiedzialnego za wychwyt i cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząsteczkami magnetycznymi. Mikrocząsteczki, w tym wychwycona cząsteczka szukana z nimi związana, są odciągane do brzegu naczynia reakcyjnego za pomocą magnesów, a następnie odsysany jest supernatant. Cząsteczki są przemywane w celu usunięcia pozostałości matrycy próbki, która może zawierać inhibitory reakcji amplifikacji. Po zakończeniu etapów wychwytywania cząsteczek szukanых, próbki są gotowe do amplifikacji.

Testy amplifikacji cząsteczek szukanых są oparte na zdolności komplementarnych starterów oligonukleotydowych do swoistej hybrydyzacji i umożliwiają enzymatyczną amplifikację szukanых nici kwasu nukleinowego. Reakcja Hologic TMA replikuje specyficzny region 16S rRNA z CT poprzez półprodukt DNA. Dla cząsteczki szukanej stosowany jest unikalny zestaw starterów. Wykrywanie sekwencji produktu amplifikacji rRNA (amplikonu) uzyskuje się za pomocą hybrydyzacji kwasów nukleinowych. Jednoniciowa chemiluminescencyjna sonda DNA, która jest komplementarna do regionu szukanego amplikonu, jest znakowana cząsteczką estru akrydyny. Znakowana sonda DNA łączy się z amplikonem tworząc stabilne hybrydy RNA:DNA. Odczytnik selekcyjny odróżnia sondę zhybrydyzowaną od niezhybrydyzowanej, eliminując generowanie sygnału z tej drugiej. Podczas etapu wykrywania światło emitowane przez znakowane hybrydy RNA:DNA jest mierzone jako sygnały fotonów w luminometrze i podawane jako względne jednostki światła (RLU).

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do diagnostyki *in vitro*.
- B. Do użycia przez profesjonalistów.
- C. W celu uzyskania dodatkowych szczegółowych ostrzeżeń, środków ostrożności i procedur kontroli kontaminacji dla systemu Tigris DTS, należy zapoznać się z *Instrukcją obsługi systemu Tigris DTS*.
- D. W celu uzyskania dodatkowych szczegółowych ostrzeżeń, środków ostrożności i procedur kontroli kontaminacji dla systemu Panther, należy zapoznać się z *Instrukcją obsługi Panther System*.

Kwestie związane z laboratorium

- E. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- F. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
- G. **Ostrzeżenie: Środek drażniący i żrący:** Unikać kontaktu odczynnika Auto Detect 2 ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu płynu ze skórą lub oczami należy je przemyć wodą. Jeśli dojdzie do rozlania płynu, należy rozcieńczyć go wodą, po czym wytrzeć do sucha.
- H. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M).

Szczególnie dla systemu DTS

- I. Zalecane jest przeznaczenie odrębnego obszaru na HPA w celu zminimalizowania kontaminacji próbek amplikonem. Ten odrębny obszar powinien znajdować się z dala od obszarów przygotowywania odczynników, wychwytywania cząsteczek szukanych oraz amplifikacji.
- J. W celu uniknięcia zanieczyszczeń obszarów laboratoryjnych amplikonem obszar laboratoryjny powinien być zorganizowany w taki sposób, aby przepływ pracy – od przygotowania próbki do HPA – był jednokierunkowy. Próbki, wyposażenie i odczynniki nie powinny być zwracane do obszaru, w którym był wykonywany poprzedni etap. Ponadto, personel nie powinien przechodzić do obszarów roboczych, w których były wykonywane poprzednie czynności bez zachowania odpowiednich środków zapobiegających kontaminacji.

Kwestie dotyczące próbek

- K. Test został przetestowany z użyciem próbek wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej, płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt, próbek wymazów z pochwy oraz próbek moczu kobiet i mężczyzn. Nie określono skuteczności wyników dla próbek innych niż wymienione w punkcie Pobieranie i przechowywanie próbek.
Laboratoria mogą zatwierdzić inne urządzenia do pobierania próbek (16, 18).

- L. Daty ważności wymienione na zestawach do pobierania próbek obowiązują ośrodek, w którym pobierana jest próbka, a nie placówkę, w której wykonywane są badania. Próbki zebrane w dowolnym czasie przed upływem daty ważności zestawu do pobierania próbek mogą być badane, o ile były transportowane i przechowywane zgodnie z ulotką załączoną do opakowania, nawet jeżeli minęła data ważności próbki do pobierania próbek.
- M. Roztwór PreservCyt został zatwierdzony jako alternatywne podłoże do badań z użyciem testu Aptima CT. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt przetwarzane przy użyciu urządzeń innych niż ThinPrep 2000 nie zostały ocenione pod kątem badań przy użyciu testów Aptima.
- N. Po dodaniu moczu do próbki do transportowania moczu poziom płynu musi wypadać między dwoma czarnymi wskaźnikami na etykiecie próbki. W przeciwnym razie należy odrzucić próbkę.
- O. W trakcie transportu próbek zapewnić prawidłowe warunki przechowywania, pozwoli to zachować ich prawidłowy stan. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- P. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności. Właściwe metody postępowania z próbkami oraz utylizacji próbek powinien określić kierownik laboratorium. Do wykonywania tej procedury diagnostycznej powinien być upoważniony wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w obchodzeniu się z materiałami zakaźnymi.
- Q. W czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie mikroorganizmów. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie miały ze sobą styczności, i utylizować zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.
- R. Jeżeli w próbce transportowej z wymazem nie będzie wymazu, będą dwa wymazy, wacik do czyszczenia albo wymazówka firmy innej niż Hologic, próbkę należy odrzucić. Przed odrzuceniem próbki transportowej bez wymazu należy sprawdzić, czy nie jest to próbka do przenoszenia próbek firmy Aptima, ponieważ nie będzie ona zawierać wymazówki.
- S. W przypadku płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt należy pobierać próbki zgodnie z instrukcjami producenta. Porcje pobrane z fiolki z roztworem PreservCyt do badania testem Aptima CT powinny być przetwarzane wyłącznie przy użyciu zestawu do przenoszenia próbek Aptima.
- T. W pewnych warunkach po przekłuciu spod zakrętek próbek transportowych Aptima może uwolnić się płyn. Aby temu zapobiec, należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w odpowiedniej *Procedurze testu*.

Kwestie dotyczące testu

- U. Skuteczności wyników dla próbek wymazu z pochwy nie ustalono u kobiet w ciąży.
- V. Wyniki badania próbek wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i cewki moczowej mężczyzn, próbek moczu mężczyzn i kobiet oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt nie zostały ocenione u młodzieży w wieku poniżej 16 lat.
- W. Nie należy używać zestawu po upływie terminu ważności.

- X. Nie wymieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych pochodzących z zestawów o różnych numerach serii. Kontrole i płyny do testów firmy Aptima mogą mieć różne numery partii.

Szczególnie dla systemu DTS

- Y. Należy używać końcówek z hydrofobowymi korkami. Do użytku z tym testem należy przeznaczyć co najmniej dwa pipetory powtarzalne: jeden do stosowania w etapach wychwytywania cząsteczek szukanych i amplifikacji i jeden do stosowania w etapach HPA. Do użycia w tym badaniu należy przeznaczyć dwa mikropipetory: jeden do przenoszenia próbek i jeden do przygotowywania odczynników. Wszystkie pipetory należy regularnie czyścić, zgodnie z opisem w sekcji *Procedura testu w systemach DTS, Uwagi dotyczące procedury*.
- Z. W przypadku używania pipetorów powtarzalnych do dodawania odczynnika nie należy dotykać próbki końcówką pipety, aby zapobiec przeniesieniu materiału z jednej próbki do drugiej.
- AA. Do uzyskania dokładnych wyników testu niezbędne jest dokładne wymieszanie próbek. Szczegółowe informacje zawiera sekcja *Procedura testu w systemach DTS, Uwagi dotyczące procedury*.
- AB. Dla etapów wykonywanych przy wychwytywaniu cząsteczek szukanych, podczas amplifikacji i HPA w teście należy przeznaczyć odrębne łaźnie wodne.
- AC. Odtwarzalność testu została ustalona przy użyciu podłoża transportowego do wymazów z rRNA. Odtwarzalność podczas badania próbek wymazu i moczu zawierających mikroorganizm szukany nie została określona.
- AD. Karty uszczelniające należy wyrzucić do pojemnika na odpady natychmiast po wyjęciu ich z próbek reakcyjnych. Należy zawsze używać świeżych kart uszczelniających: nigdy nie należy używać kart z poprzedniego etapu. Karty uszczelniające należy mocno przymocować do górnej części wszystkich próbek reakcyjnych.
- AE. Niektóre odczynniki zawarte w tym zestawie są oznaczone etykietami z informacjami o zagrożeniach.

Uwaga: Stosowane treści informujące o zagrożeniach odzwierciedlają klasyfikację stosowaną w kartach charakterystyki substancji niebezpiecznych (Safety Data Sheet, SDS) obowiązującą w UE. Informacje na temat zagrożeń właściwe dla konkretnego regionu zawiera karta SDS odpowiadająca temu regionowi. Dokumenty te są dostępne w bibliotece kart charakterystyki pod adresem www.hologicsds.com.

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
—	<p>Odczynnik do amplifikacji HEPES 25–30%</p> <p>—</p> <p>H412 — Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 — Unikać uwalniania do środowiska P280 — Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy</p>
—	<p>Odczynnik enzymatyczny HEPES 1–5%</p> <p>—</p> <p>H412 — Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 — Unikać uwalniania do środowiska P280 — Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy</p>

—	<p>Odczynnik zawierający sondy <i>LAURYLOSIARCZAN LITU 35–40%</i> <i>KWAS BURSZTYNOWY 10–15%</i> <i>WODOROTLENEK LITU, MONOHYDRAT 10–15%</i></p> <p>—</p> <p>H412 — Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 — Unikać uwalniania do środowiska P280 — Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy</p>
	<p>Odczynnik selekcyjny <i>KWAS BOROWY 1–5%</i> OSTRZEŻENIE H315 — Działa drażniąco na skórę</p>
—	<p>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych <i>HEPES 5–10%</i> <i>EDTA 1–5%</i> <i>WODOROTLENEK LITU, MONOHYDRAT 1–5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 — Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 — Unikać uwalniania do środowiska P280 — Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy</p>
Dodatkowe informacje dotyczące systemów DTS	
 	<p>Bufor do płynu do inaktywacji <i>WODOROTLENEK SODU 1–5%</i> <i>PODCHLORYN SODU <1%</i> OSTRZEŻENIE H315 — Działa drażniąco na skórę H319 — Działa drażniąco na oczy H411 — Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 — Unikać uwalniania do środowiska P280 — Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy</p>
	<p>Odczynnik olejowy Aptima <i>POLIDIMETYLOSILOKSAN 100%</i> OSTRZEŻENIE H315 — Działa drażniąco na skórę H319 — Działa drażniąco na oczy</p>

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

- A. Następujące odczynniki są stabilne, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C (w lodówce):
- Odczynnik amplifikacji CT Aptima
 - Odczynnik enzymatyczny Aptima
 - Odczynnik-sonda CT Aptima
 - Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B Aptima
 - Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC Aptima
 - Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT Aptima
- B. Poniższe odczynniki są stabilne, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C:
- Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji CT Aptima
 - Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych Aptima
 - Roztwór do przygotowania odczynników-sond CT Aptima
 - Odczynnik selekcyjny Aptima

- C. Następujące odczynniki są stabilne, jeśli są przechowywane w temperaturze od 15°C do 30°C (temperatura pokojowa):
- Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych CT Aptima
 - Roztwór do płukania Aptima
 - Bufor do płynu dezaktywującego Aptima
 - Odczynnik olejowy Aptima
- D. Roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych CT (Working Target Capture Reagent CT, wTCR CT) zachowuje stabilność przez 60 dni, gdy jest przechowywany w temperaturze od 15°C do 30°C. Nie przechowywać w warunkach chłodniczych.
- E. Po przygotowaniu odczynnik enzymatyczny, odczynnik amplifikacji CT i odczynnik-sonda są stabilne przez 60 dni, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C.
- F. Niewykorzystane przygotowane odczynniki oraz odczynnik wTCR CT należy wyrzucić po 60 dniach lub po upływie daty ważności partii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- G. Kontrole są stabilne do momentu upłynięcia daty wskazanej na fiolkach.
- H. Odczynniki z butelek na 100 testów przechowywane w systemie Tigris DTS mają 96 godzin stabilności.
- I. Odczynniki przechowywane w systemie Panther zachowują stabilność przez 72 godziny.
- J. Odczynnik-sonda CT oraz przygotowany odczynnik-sonda CT są wrażliwe na światło. Przechowywane odczynniki należy chronić przed ekspozycją na światło.
- K. Po ogrzaniu do temperatury pokojowej, niektóre próbki z kontrolą mogą wydawać się mętne lub zawierać osady. Zjawiska mętności lub osadu związane z kontrolami nie mają wpływu na ich działanie. Kontrole można stosować bez względu na to, czy są klarowne, czy mętne/wytrącone. Jeśli pożądane są kontrole klarowne, solubilizację można przyspieszyć, inkubując je w górnej granicy zakresu temperatury pokojowej (od 15°C do 30°C).
- L. **Nie zamrażać odczynników.**

Pobieranie i przechowywanie próbek

Test Aptima CT jest przeznaczony do wykrywania obecności CT w pobranych przez lekarza próbkach wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej, w próbkach wymazów z pochwy pobranych przez pacjentkę, w próbkach moczu kobiet i mężczyzn oraz w próbkach płynnych Pap w roztworze PreservCyt. Skuteczność wyników dla próbek innych niż pobrane za pomocą poniższych zestawów do pobierania próbek nie została ustalona:

- Zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex
- Zestaw do pobierania próbek moczu Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn
- Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest
- Zestaw do transportu próbek Aptima (do stosowania z próbkami ginekologicznymi pobranymi w roztworze PreservCyt)

A. Instrukcja pobierania:

Instrukcje pobierania przedstawiono w odpowiedniej ulotce załączonej do opakowania zestawu do pobierania próbek.

B. Transport i przechowywanie próbek przed wykonaniem testów:

1. Próbki wymazów z układu moczowo-płciowego:

- a. Po pobraniu należy transportować i przechowywać wymaz w probówce do transportu próbek wymazów w temperaturze od 2°C do 30°C do momentu wykonania badania. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, próbki z układu moczowo-płciowego w probówkach do transportu próbek w postaci wymazu należy zamrozić w temperaturze od -20°C do -70°C w ciągu 7 dni od pobrania. Próbki przechowywane w ten sposób mogą zostać wykorzystane do badań przez 12 miesięcy od ich pobrania (patrz Badania stabilności próbek).

2. Próbki moczu:

- a. Po pobraniu próbki moczu należy przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C i przenieść je do probówki do transportu próbek moczu Aptima w ciągu 24 godzin od pobrania. Próbki należy transportować do laboratorium w pierwotnym pojemniku do pobierania lub probówce transportowej w temperaturze od 2°C do 30°C. Próbki należy przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C. Przetworzone próbki moczu należy zbadać przy użyciu testu Aptima CT w ciągu 30 dni od ich pobrania.
- b. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, próbki moczu w probówce do transportu próbek moczu Aptima należy zamrozić w temperaturze od -20°C do -70°C w ciągu 7 dni od pobrania. Próbki przechowywane w ten sposób mogą zostać wykorzystane do badań przez 12 miesięcy od ich pobrania (patrz Badania stabilności próbek).

3. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt:

- a. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt przeznaczone do badania CT muszą być przetworzone do badań cytologicznych i/lub przeniesione do probówki do przenoszenia próbek Aptima w ciągu 30 dni od pobrania, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C (patrz Badania stabilności próbek).
- b. Jeżeli będzie stosowana procedura wyjmowania porcji ThinPrep, należy zapoznać się z instrukcjami dotyczącymi wyjmowania porcji dostępnymi w *Instrukcji obsługi urządzenia ThinPrep 2000*. Przenieść 1 mL wyjętej porcji do probówki do przenoszenia próbek Aptima zgodnie z instrukcją zamieszczoną w ulotce dołączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima.
- c. W przypadku badania próbki po przetworzeniu przy użyciu urządzenia ThinPrep 2000 należy przetworzyć płynną próbkę Pap w roztworze PreservCyt zgodnie z *Instrukcją obsługi urządzenia ThinPrep 2000* i ulotką dołączoną do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima. Przenieść 1,0 mL płynu pozostałego we fiolce z roztworem PreservCyt do probówki do przenoszenia próbek Aptima zgodnie z instrukcją zamieszczoną w ulotce dołączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima.
- d. Po przeniesieniu płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt do probówki do przenoszenia próbek Aptima próbka musi zostać zbadana przy użyciu testu Aptima CT w ciągu 30 dni w przypadku przechowywania w temperaturze od 2°C do 8°C lub 14 dni w przypadku przechowywania w temperaturze od 15°C do 30°C. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, próbki w probówce do przenoszenia próbek Aptima należy zamrozić w temperaturze od -20°C do -70°C

w ciągu 7 dni od pobrania. Próbki przechowywane w ten sposób mogą zostać wykorzystane do badań przez 12 miesięcy od przeniesienia (patrz Badania stabilności próbek).

C. Przechowywanie próbek po teście:

1. Próbki, które były już badane, należy przechowywać pionowo w statywie.
2. Probówki transportowe na próbki należy przykryć nowym, czystym parafilmem albo folią ochronną.
3. Jeżeli badane próbki należy zamrozić albo wysłać, zdjąć przepuszczalne zakrętki i nałożyć nowe nieprzepuszczalne lub przepuszczalne zakrętki na wszystkie probówki transportowe na próbki. Jeżeli konieczne jest wysłanie próbek do badania do innej placówki, należy zawsze przestrzegać zalecanych temperatur. Przed zdjęciem zakrętek z wcześniej badanych próbek, na które nałożono nowe zakrętki, probówki transportowe na próbki należy wirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa), aby całość płynu znalazła się na dnie probówki. **Unikać rozpryskiwania i zanieczyszczenia krzyżowego.**

Uwaga: *Próbki należy przysyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi i międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu.*

Systemy DTS

Poniżej wymieniono odczynniki potrzebne do wykonania testu Aptima CT w systemie DTS. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Dostarczone odczynniki i materiały

Zestaw testów Aptima Chlamydia trachomatis, 100 testów (2 opakowania) (kat. nr 301088)

Skrzynia chłodnicza na testy Aptima Chlamydia trachomatis (Skrzynia 1 z 2)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	Odczynnik amplifikacji CT Aptima <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym < 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
E	Odczynnik enzymatyczny Aptima <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym < 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
P	Odczynnik-sonda CT Aptima <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 fiolka
TCR-B	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B Aptima <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 x 0,35 mL
PCT/NGC	Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC Aptima <i>Niezakaźny kwas nukleinowy CT w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA dla 1 CT IFU (5 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL
PGC/NCT	Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT Aptima <i>Niezakaźny kwas nukleinowy GC w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA 50 komórek GC (250 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL

*Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu.

W skrzyni chłodniczej znajdują się również następujące elementy (taca do przechowywania)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
AR	Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji CT Aptima <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 x 9,3 mL
ER	Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych Aptima <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 3,3 mL
PR	Roztwór do przygotowania odczynników-sond CT Aptima <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający < 5% detergentu.</i>	1 x 12,4 mL

W skrzyni chłodniczej znajdują się również następujące elementy (taca do przechowywania)
(ciąg dalszy)

Symbol	Element	Liczba sztuk
S	Odczynnik selekcyjny Aptima <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 x 31 mL
	Kołnierze do przygotowania odczynników	3
	Karty uszczelniające	1 opakowanie

Skrzynia do przechowywania w temperaturze pokojowej na testy Aptima Chlamydia trachomatis
(Skrzynia 2 z 2)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych CT Aptima <i>Buforowany roztwór soli zawierający fazę stałą i oligomery wychwytyjące.</i>	1 x 22 mL
W	Roztwór do płukania Aptima <i>10 mM roztworu buforowanego HEPES zawierającego < 2% detergentu.</i>	1 x 402 mL
DF	Bufor do płynu dezaktywującego Aptima <i>800 mM roztworu buforowanego wodorowęglanem.</i>	1 x 402 mL
O	Odczynnik olejowy Aptima <i>Olej silikonowy</i>	1 x 24,6 mL

Materiały wymagane, ale dostępne osobno

Uwaga: Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.

	Kat. Nr
Leader HC+ Luminometer	104747-01
System do wychwytywania cząsteczek szukanych (TCS) firmy Hologic	104555
Inkubatory i wyrzäsarki:	
2 wyrzäsarki na wiele probówek	102160G
3 łaźnie z obiegiem wody (62°C ± 1°C, 42°C ± 1°C, 62°C ± 1°C)	104586
3 separatory do łaźni wodnych	104627
LUB	
2 produkty typu łaźnia z suchym ciepłem / wyrzäsarka SB100105524 Wraz ze wzrostem objętości testu może być wymagana dodatkowa łaźnia SB100	
Zestaw Aptima Auto Detect	301048
2 pipetory Eppendorf Repeater Plus	MME-02362
2 pipetory, 1000 µL RAININ PR1000	901715
Pipetor Eppendorf, 20 µL do 200 µL	105726
Końcówki pipetora powtarzalnego, 2,5 mL	21-381-329
Końcówki pipetora powtarzalnego, 5,0 mL	21-381-330

	<u>Kat. Nr</u>
Końcówki pipetora powtarzalnego, 25,0 mL	21-381-115
Końcówki, styl P1000	105049
<i>końcówka o specjalnej średnicy dostępna tylko w firmie Hologic</i>	
Końcówki pipety 20 µL do 200 µL	705512 (Fisher)
Zestawy dziesięcioprobówkowe (Ten Tube Units, TTU)	TU0022
Kasety dziesięciokońcówkowe (Ten Tip Cassettes, TTC)	104578
Zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex	301041
Zestaw do pobierania próbek moczu Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	301040
Probówki transportowe Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	105575
Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest	PRD-03546
Zestaw do transportu próbek Aptima	301154C
Zestaw do transportu próbek Aptima – drukowalny	PRD-05110
Wzorzec kalibracji SysCheck	301078
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M)	—
Standardowe pojemniki do pobierania moczu, bez konserwantów	—
Pojemnik z tworzywa sztucznego z dużą zakrętką	—
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A

Materiały opcjonalne

	<u>Kat. Nr</u>
Zestaw kontroli Aptima	301110
Płyny do testu Aptima	302002C
<i>Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima, odczynnik olejowy Aptima</i>	
Wzmacniacz wybielacza do czyszczenia Hologic	302101
<i>do rutynowego czyszczenia powierzchni i sprzętu</i>	
Końcówki przewodzące 1000 µL, wykrywające ciecz	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4 zawierający	900932
<i>Błaszczkę roboczą do testu Aptima Combo 2 w Systemie DTS 800</i>	105200
<i>Zbiornik na odczynniki (moduł ćwiartkowy 40 mL)</i>	104765
<i>Podzielony zbiornik na odczynniki (19 mL x 2 moduły ćwiartkowe)</i>	104763

Procedura testu w systemach DTS

A. Przygotowanie sprzętu

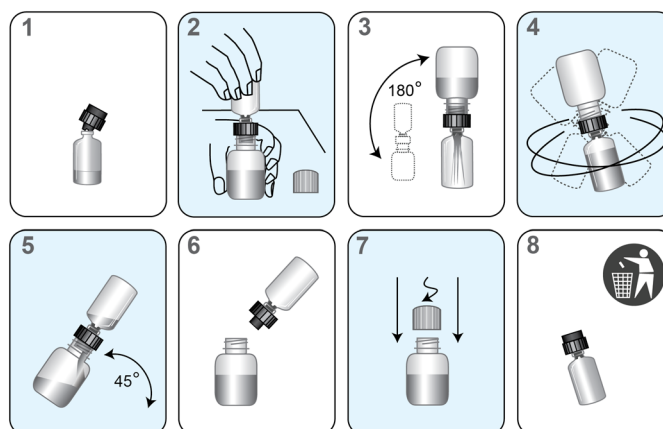
1. Nastawić jedną łaźnię wodną na temperaturę $62^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (w celu wychwytywania cząsteczek szukanych oraz wiązania starterów), drugą łaźnię wodną na temperaturę $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (w celu przeprowadzenia amplifikacji) oraz trzecią łaźnię wodną na temperaturę $62^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (w celu wykonywania HPA). W przypadku używania aparatu SB100™ Dry Heat Bath/Vortexer należy zapoznać się z dokumentem *Karta zastosowania SB100 Dry Heat Bath/Vortexer (Karta zastosowania SB100)*.
2. Przed rozpoczęciem testu przetrzeć powierzchnie robocze i pipetory roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien oddziaływać na powierzchnie robocze i pipetory przez co najmniej jedną minutę, następnie należy spłukać go wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię stołu, na którym będzie przygotowane badanie, czystymi, wzmocnionymi tworzywem sztucznym, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
3. Umieścić wystarczającą ilość Kaset dziesięciokońcówkowych w systemie do wychwytywania cząsteczek szukanych (TCS). Upewnić się, że butelka do płukania TCS jest wypełniona roztworem do płukania Aptima, a głowica aspiracyjna jest podłączona do pompy próżniowej. (Patrz *Instrukcja obsługi systemu do wychwytywania cząsteczek szukanych*.)

B. Przygotowanie odczynników

Uwaga: Odczynnik należy przygotować przed rozpoczęciem przenoszenia próbki.

1. Aby przygotować odczynniki amplifikacji CT, odczynniki enzymatyczne i odczynniki-sondy CT, należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynnikiem z zawartością butelek z roztworami do przygotowania. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodziarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do przygotowania odczynników osiągną temperaturę pokojową.
 - a. Dopasować odpowiedni roztwór do przygotowania do każdego liofilizowanego odczynnika. Etykiety są oznaczone kolorami, dzięki czemu można je prawidłowo sparować.
 - b. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno włożyć nacięty koniec kołnierza do przygotowania odczynników do otworu fiolki (Rysunek 1, etap 1).
 - c. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - d. Trzymając butelkę z roztworem do przygotowania odczynników na stole, mocno włożyć drugi koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór butelki (Rysunek 1, etap 2).
 - e. Powoli odwrócić połączone buteleczkę i fiolkę. Pozwolić, aby roztwór spłynął z butelki do fiolki (Rysunek 1, etap 3).
 - f. Delikatnie zataczać fiolką koła w powietrzu, aby wymieszać jej zawartość. Nie dopuszczać do wytwarzania piany podczas mieszania zawartości fiolki ruchem wirowym (Rysunek 1, etap 4).
 - g. Poczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, a następnie ponownie odwrócić połączone buteleczkę i fiolkę, przechylając pod kątem 45° , aby zminimalizować powstawanie piany (Rysunek 1, etap 5). Poczekać, aż płyn ponownie spłynie do buteleczki.

- h. Usunąć kołnierz do przygotowania odczynników z buteleczki (Rysunek 1, etap 6).
- i. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę. Zapisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników na etykiecie (Rysunek 1, etap 7).
- j. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i fiolkę (Rysunek 1, etap 8).



Rysunek 1. Proces przygotowania odczynników w systemie DTS

2. Przed rozpoczęciem testu uprzednio przygotowane odczynniki zawierające sondy CT, odczynniki amplifikacji CT i odczynniki enzymatyczne muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C). Jeśli odczynnik-sonda zawiera wytrącony osad, który nie rozpuszcza się w temperaturze pokojowej, należy ogrzewać go w temperaturze 62°C przez 1-2 minuty. Po tym etapie ogrzewania odczynnik-sonda może być użyty, nawet jeśli pozostanie osad resztkowy. Po ponownym zawieszeniu wymieszać przez delikatne odwrócenie, uważając, aby nie wytworzyć piany.

Uwaga: Ten etap odwrócenia należy wykonać za każdym razem, gdy rozpuszcza się osad w roztworze, czy to przez ogrzewanie w temperaturze 62°C, czy przez ogrzewanie w temperaturze pokojowej.

3. Przygotować odczynnik wTCR CT
 - a. Przenieść 20 mL TCR CT do odpowiednio dużego, przeznaczonego do tego celu, czystego, suchego pojemnika.
 - b. Używając mikropipetora, dodać 200 µL TCR-B do TCR CT.
 - c. Dokładnie wymieszać roztwór poprzez wirowanie.
 - d. Oznakować pojemnik. Zapisać inicjały operatora, datę przygotowania i oba numery partii.

Uwaga: W przypadku mniejszej liczby reakcji (próbki i kontrole), do obliczenia objętości TCR CT i TCR-B należy użyć poniższego wzoru:

$$\text{Objętość TCR (mL)} = (\text{liczba reakcji} + 5 \text{ reakcji dodatkowych}) \times 0,1 \text{ mL}$$

$$\text{Objętość TCR-B (mL)} = \text{objętość TCR (mL)} / 100$$

C. Wychwytywanie cząsteczek szukanych

Pipetor powtarzalny używany w etapie wychwytywania cząsteczek szukanych i amplifikacji powinien być przeznaczony wyłącznie do użytku w tych etapach. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Ostrzeżenia i środki ostrożności*.

Przygotowanie statywu

1. Przed obróbką odczekać, aż kontrole i próbki osiągną temperaturę pokojową.
2. **Nie wytrząsać próbek.**
3. Wizualnie sprawdzić, czy każda probówka z próbką spełnia następujące kryteria:
 - a. Obecność pojedynczej niebieskiej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki unisex.
 - b. Obecność pojedynczej różowej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki wymazów Multitest lub z pochwy.
 - c. Końcowa objętość moczu pomiędzy czarnymi liniami napełnienia probówki transportowej do próbek moczu.
 - d. Brak wymazu w probówce transportowej na próbki Aptima w przypadku płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt.
4. Sprawdzić probówki z próbkami przed ich nakłuciem:
 - a. Jeżeli probówka z próbką zawiera pęcherzyki między płynem a zakrętką, wirować probówkę przez 5 minut w 420 RCF w celu wyeliminowania pęcherzyków.
 - b. Jeżeli objętość materiału w probówce z próbką jest mniejsza niż zwykle obserwowana w sytuacji, gdy przestrzegano instrukcji pobierania, wirować probówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że pod zakrętką nie będzie płynu.
 - c. Jeżeli poziom płynu w probówce do pobierania próbek moczu nie znajduje się pomiędzy dwoma czarnymi liniami wskaźnika na etykiecie, próbka musi zostać odrzucona. Nie należy przekłuwać przepelnionej probówki.
 - d. Jeśli próbka moczu zawiera osad, podgrzewać próbkę w temperaturze 37°C przez maksymalnie 5 minut. Jeśli wytrącony osad nie rozpuści się z powrotem w roztworze, wizualnie upewnić się, że nie przeszkodzi w podawaniu próbki.

Uwaga: Pominięcie etapów 4a-c może spowodować wyciek cieczy spod zakrętki probówki.

5. Jeżeli do badań mają być użyte próbki ze standardowymi zakrętkami (zakrętki nieprzepuszczalne), to przed odkręceniem należy je odwirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa) w celu zebrania całej cieczy na dnie probówki.
Unikać rozpryskiwania i zanieczyszczenia krzyżowego.
6. W statywie na zestawy dziesięcioprobówkowe (TTU) umieścić wystarczającą liczbę zestawów TTU, aby pomieścić kontrole i próbki.
7. Jeżeli pożądana jest lista robocza, należy ją utworzyć w tym miejscu. Instrukcje dotyczące tworzenia listy roboczej można znaleźć w *Instrukcji obsługi oprogramowania testu Aptima*.
8. Dokładnie wymieszać wTCR CT. Za pomocą pipetora powtarzalnego dodać 100 µL do każdej probówki.
9. **Pierwsza probówka reakcyjna testu musi zawierać kontrolę ujemną, a druga probówka reakcyjna musi zawierać kontrolę dodatnią.**
 - a. Etykieta kontroli ujemnej dla testu Aptima CT jest niebiesko-zielona. Tekst etykiety identyfikuje kontrolę ujemną jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”. Etykieta kontroli dodatniej testu Aptima CT jest różowa. Tekst etykiety identyfikuje kontrolę dodatnią jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC”.
 - b. Trzymać probówkę z kontrolą ujemną (probówka z niebiesko-zieloną etykietą) w jednej ręce lub trzymać ją w statywie. Używając mikropipetora, przekłuć zakrętkę, uważając, aby nie wbić końcówki w dno probówki. Dodać 400 µL kontroli ujemnej (probówka z niebiesko-zieloną etykietą) do pierwszej probówki reakcyjnej. W ten sam sposób, używając nowej końcówki pipety, dodać 400 µL kontroli dodatniej (probówka z różową etykietą) do drugiej probówki reakcyjnej.

10. Kontynuować procedurę ustawiania statywu, dodając po 400 µL każdej próbki do pozostałych probówek reakcyjnych. Dla każdej próbki i kontroli należy użyć nowej końcówki pipety. Dopuszczalna objętość próbki lub kontroli dodawanej do probówki reakcyjnej wynosi 400 µL ± 100 µL. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Uwagi dotyczące procedury, Pipetowanie kontroli i próbki*.

Wychwytywanie cząsteczek szukanych

Sposób korzystania z systemu do wychwytywania cząsteczek szukanych Hologic™ jest opisany w *Instrukcji obsługi systemu do wychwytywania cząsteczek szukanych*. W przypadku używania aparatu SB100 Dry Heat Bath/Vortexer należy zapoznać się z dokumentem *Karta zastosowania SB100*.

11. Nakryć zestawy dziesięcioprobówkowe (TTU) kartami uszczelniającymi i delikatnie ręcznie potrząsać statywem. **Nie wytrząsać intensywnie**. Inkubować statyw w łaźni wodnej w temperaturze 62°C ± 1°C przez 30 ± 5 minut.
12. Wyjąć statyw z łaźni wodnej i całkowicie osuszyć dna probówek na materiale wchłaniającym.
13. Upewnić się, że karty uszczelniające są pewnie osadzone. W razie potrzeby wymienić karty uszczelniające na nowe i dokładnie uszczelnić zestawy dziesięcioprobówkowe (TTU).
14. Wytrząsać statyw przez 60 sekund w wytrząsarce na wiele probówek. Aby uzyskać szczegółowe informacje, patrz *Uwagi dotyczące procedury, Wytrząsanie*. Rozpocząć wytrząsanie przed upływem 2 minut od wyjęcia statywu z łaźni wodnej.
15. Nie zdejmując kart uszczelniających, inkubować statyw w temperaturze pokojowej przez 30 ± 5 minut.
16. Umieścić statyw na podstawie magnetycznej systemu TCS na 5 do 10 minut.
17. Wstępnie napełnić przewód stanowiska dozowania, pompując roztwór do płukania Aptima przez kolektor dozowania. Przepompować przez układ taką ilość cieczy, by w przewodzie nie było pęcherzyków powietrza, a ze wszystkich dziesięciu dysz wypływały stabilne strumienie cieczy.
18. Włączyć pompę próżniową i odłączyć głowicę aspiracyjną przy pierwszym złączu między nią a butelką syfonową. Upewnić się, że wskazanie podciśnienia potwierdza poprawne wykonanie testu szczelności.² Uzyskanie tego odczytu może potrwać 15 sekund. Z powrotem podłączyć głowicę aspiracyjną i upewnić się, że wskazanie podciśnienia jest zgodne ze specyfikacją. Pozostawić pompę próżniową włączoną, dopóki wszystkie etapy wychwytywania cząsteczek szukanych nie zostaną wykonane, a przewód głowicy aspiracyjnej nie będzie pusty.
19. Pewnie przymocować głowicę aspiracyjną do pierwszego zestawu końcówek. Zaaspirować cały płyn, opuszczając końcówki do pierwszego TTU, aż końcówki zetkną się na krótko z dnem probówek. Nie należy utrzymywać końcówek w kontakcie z dnem probówek.
20. Po zakończeniu aspiracji zdjąć końcówki, umieszczając je w przeznaczony na nie kasecie dziesięciokońcówkowej (TTC). Powtarzać etapy aspiracji z pozostałymi zestawami TTU, używając innej końcówki z każdą próbką.
21. Umieścić kolektor dozowania nad każdym zestawem TTU i za pomocą pompy w stanowisku dozowania podać po 1,0 mL roztworu do płukania Aptima do każdej probówki w zestawie TTU.

² Aby uzyskać więcej informacji, należy zapoznać się z Arkuszem specyfikacji podciśnienia systemu wychwytywania cząsteczek szukanych, który znajduje się na tylnej stronie okładki *Instrukcji obsługi systemu do wychwytywania cząsteczek szukanych* lub skontaktować się z pomocą techniczną.

22. Nakryć probówki kartą uszczelniającą i wyjąć statyw z podstawy magnetycznej systemu TCS. Poddać statyw jednorazowemu wytrząsaniu we wstrząsarce na wiele probówek. Aby uzyskać szczegółowe informacje, patrz *Uwagi dotyczące procedury, Wytrząsanie*.
23. Umieścić statyw na podstawie magnetycznej systemu TCS na 5 do 10 minut.
24. Zaaspirować całą ciecz (patrz Etapy 19 i 20).
25. Po zakończeniu aspiracji zdjąć statyw z podstawy magnetycznej systemu TCS i obejrzeć probówki, aby upewnić się, że została zaaspirowana cała ciecz, a wszystkie probówki zawierają grudki cząsteczek magnetycznych. Jeśli widoczna jest jakakolwiek ilość cieczy, umieścić statyw z powrotem na podstawie magnetycznej systemu TCS na 2 minuty i powtórzyć aspirację z danego zestawu TTU, używając z każdą próbką tej samej końcówki, co poprzednio.

Uwaga: Jeśli po zakończeniu aspiracji widoczna jest grudka cząsteczek magnetycznych, probówkę można zaakceptować. Jeśli żadna grudka nie jest widoczna, próbkę należy ponownie przetestować. Jeśli w następnej serii w tym samym etapie ta sama próbka znów nie będzie zawierać grudek cząsteczek magnetycznych, można podejrzewać problem z konkretną próbką. W takiej sytuacji zaleca się ponowne pobranie próbki.

D. Amplifikacja

W przypadku używania aparatu SB100 Dry Heat Bath/Vortexer należy zapoznać się z dokumentem *Karta zastosowania SB100*.

1. Używając pipetora powtarzalnego, dodać po 75 μL przygotowanego odczynnika amplifikacji CT do każdej probówki reakcyjnej. Wszystkie mieszaniny reakcyjne w statywie powinny mieć teraz kolor czerwony.
2. Za pomocą pipetora powtarzalnego dodać po 200 μL odczynnika olejowego do każdej probówki reakcyjnej.
3. Nakryć probówki kartą uszczelniającą i wytrząsać je we wstrząsarce na wiele probówek.
4. Inkubować statyw w łaźni wodnej o temperaturze $62^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 10 ± 5 minut.
5. Przenieść statyw do łaźni wodnej o temperaturze $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ i inkubować przez 5 ± 2 minuty.
6. Ostrożnie zdjąć kartę uszczelniającą ze statywu znajdującego się w łaźni wodnej i za pomocą pipetora powtarzalnego dodać po 25 μL przygotowanego odczynnika enzymatycznego do każdej probówki reakcyjnej. Wszystkie mieszaniny reakcyjne powinny mieć teraz kolor pomarańczowy.
7. Natychmiast nakryć probówki nową kartą uszczelniającą, wyjąć statyw z łaźni wodnej i wymieszać probówki reakcyjne, delikatnie ręcznie potrząsając statywem.
8. Inkubować statyw w łaźni wodnej o temperaturze $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 60 ± 15 minut.

E. Test ochrony hybrydyzacji (Hybridization Protection Assay, HPA)

W przypadku używania aparatu SB100 Dry Heat Bath/Vortexer należy zapoznać się z dokumentem *Karta zastosowania SB100*.

Pipetor powtarzalny używany w etapach hybrydyzacji i selekcji powinien być przeznaczony wyłącznie do użytku w tych etapach. Patrz *Ostrzeżenia i środki ostrożności*.

1. Hybrydyzacja
 - a. Wyjąć statyw z łaźni wodnej i przenieść go do obszaru HPA. Używając pipetora powtarzalnego, dodać po 100 μL przygotowanego odczynnika-sondy CT do każdej probówki reakcyjnej. Wszystkie mieszaniny reakcyjne powinny mieć teraz kolor żółty.
 - b. Nakryć probówki kartą uszczelniającą i wytrząsać statyw we wstrząsarce na wiele probówek.

- c. Inkubować statyw w łaźni wodnej o temperaturze $62^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 20 ± 5 minut.
 - d. Wyjąć statyw z łaźni wodnej i inkubować go w temperaturze pokojowej przez 5 ± 1 minut.
2. Selekcja
 - a. Za pomocą pipetora powtarzalnego dodać po 250 μL odczynnika selekcyjnego do każdej probówki reakcyjnej. Wszystkie mieszaniny reakcyjne powinny mieć teraz kolor czerwony.
 - b. Nakryć probówki kartą uszczelniającą, wytrząsać statyw przez 10 sekund lub do uzyskania jednorodnego zabarwienia i inkubować statyw w łaźni wodnej o temperaturze $62^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 10 ± 1 minut.
 - c. Wyjąć statyw z łaźni wodnej.

3. Detekcja

Detekcję należy wykonać w temperaturze od 18°C do 28°C .

- a. Inkubować statyw w temperaturze od 18°C do 28°C przez 15 ± 3 minuty.

Uwaga: Ten zakres temperatur jest krytyczny dla wyników testów.

- b. Informacje na temat korzystania z Luminometru Leader™ HC+ i oprogramowania testu Aptima znajdują się w *Instrukcji obsługi Luminometru Leader HC+* i *Instrukcji obsługi oprogramowania do testu Aptima*.
- c. Upewnić się, że objętości odczynników Auto Detect 1 i 2 są wystarczające do ukończenia testów.
- d. Przygotować Luminometr Leader HC+, umieszczając jeden pusty zestaw dziesięcioprobówkowy (TTU) w kasecie na pozycji 1 i wykonując protokół **Wash (Płukanie)**.
- e. Załadować TTU do luminometru.
- f. Zalogować się do komputera. Kliknąć **New Run (Nowa seria)**, wybrać **Aptima CT Assay Protocol (Protokół analizy Aptima CT)** i wprowadzić liczbę próbek (kontrol i próbek). Kliknąć opcję **Next (Dalej)**, aby rozpocząć serię.

Uwaga: Seria musi zakończyć się w ciągu 2 godzin od zakończenia inkubacji w etapie selekcji.

- g. W pojemniku z tworzywa sztucznego z dużą zakrętką przygotować płyn dezaktywujący poprzez wymieszanie równych objętości roztworu podchlorynu sodu o stężeniu od 5% do 7% (0,7 M do 1,0 M) z buforem do płynu dezaktywującego Aptima. Na pojemniku z tworzywa sztucznego umieścić etykietę i zapisać na niej termin ważności. Płyn dezaktywujący jest stabilny przez 4 tygodnie w temperaturze pokojowej. Wyrzucić płyn dezaktywujący po 4 tygodniach lub po dezaktywacji 100 przetworzonych próbek (w zależności od tego, co nastąpi wcześniej).
- h. Po wyjęciu zużytych TTU z luminometru, umieścić TTU w pojemniku z płynem dezaktywującym. Pozostawić zestawy TTU w pojemniku na 15 minut przed poddaniem ich utylizacji. Właściwe metody postępowania z próbkami oraz utylizacji próbek powinien określić kierownik laboratorium.

Uwagi dotyczące procedury

A. Kontrole

Aby dobrze współpracować z oprogramowaniem testu Aptima, Kontrola ujemna dla CT, oznaczona „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”, musi znajdować się na pierwszej pozycji pierwszego TTU. Kontrola dodatnia dla CT, oznaczona „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC”, musi znajdować się na drugiej pozycji pierwszego TTU. Umieszczenie w niewłaściwej pozycji spowoduje niepowodzenie serii. Wszelkie dodatkowe kontrole należy wprowadzać jako próbki pobrane od pacjenta i monitorować przez operatora pod kątem akceptowalności. Kontrola dodatnia dla GC służy jako Kontrola ujemna dla testu Aptima CT.

B. Pipetowanie kontroli i próbki

Objętość kontroli lub próbki dodawana do próbówki reakcyjnej powinna wynosić 400 µL ± 100 µL. Zaleca się wzrokowe kontrolowanie objętości pipetowanych do próbówki reakcyjnej w celu upewnienia się, że przenoszone są właściwe objętości. Właściwa objętość kontroli lub próbki jest niezbędna do uzyskania dokładnych wyników. Jeśli nie została odmierzona odpowiednia objętość, należy ponownie odmierzyć pipetą wTCR CT oraz kontrolę lub próbkę do nowej próbówki reakcyjnej.

C. Odczynniki

Z roztworu do przygotowania sond może w trakcie przechowywania wytrącać się osad. Jeśli tak się stanie, należy podgrzać roztwór do przygotowania sond w temperaturze 62°C przez 1 do 2 minut. Po tym etapie ogrzewania można użyć roztworu do przygotowania sond, nawet jeśli zawiera on resztkowy osad. Po ponownym zawieszeniu wymieszać fiolkę przez delikatne odwrócenie, uważając, aby nie wytworzyć piany.

D. Temperatura

1. Etapy wychwytywania cząsteczek szukanych, amplifikacji, hybrydyzacji i selekcji są zależne od temperatury. Dlatego łącznie wodne muszą być utrzymywane we wskazanych zakresach temperatur.
2. Temperatura pokojowa jest zdefiniowana jako zakres od 15°C do 30°C.
3. Etapy detekcji w teście należy wykonać w temperaturze od 18°C do 28°C.

E. Czas

Reakcje wychwytywania cząsteczek szukanych, amplifikacji, hybrydyzacji i selekcji są zależne od temperatury. Należy przestrzegać czasów wskazanych w *Procedura testu w systemach DTS*.

F. Wytrząsanie

Prawidłowe wytrząsanie jest ważne dla pomyślnego przebiegu testu Aptima CT. Gdy osiągnięty zostanie odpowiedni ruch wytrząsania, zawieszina zaczyna się obracać z prędkością, która unosi roztwór do górnej połowy próbówki. Ta manipulacja (wytrząsanie) jest utrzymywana przez określony czas. Mieszaniny reakcyjne należy wytrząsać we wstrząsarce na wiele próbek, wewnątrz przymocowanego statywu. Należy nastawić najniższą prędkość wstrząsarki i włączyć zasilanie. Powoli zwiększać prędkość, dopóki ciecz nie będzie unosić się do połowy wysokości próbówki. Wytrząsać przez 10 sekund, czyli czas podany w instrukcji, aż do uzyskania jednorodnego zabarwienia. Następnie, przed wyłączeniem wstrząsarki na wiele próbek i zdjęciu statywu należy nastawić najniższą prędkość. Mieszaniny reakcyjne nigdy nie powinny zetknąć się z kartami uszczelniającymi.

G. Łaźnie wodne

1. Głębokość łaźni wodnych – mierzona od metalowej tacy podporowej (na dnie łaźni) do powierzchni wody – musi stale wynosić od 3,8 cm do 5 cm (1,5 cala do 2,0 cali). Zapewni to prawidłowy transfer ciepła.
2. Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego, w każdym etapie testu należy używać innej łaźni wodnej.

H. Odkazanie

1. Powierzchnie i pipetory

Laboratoryjne powierzchnie robocze i pipetory należy regularnie odkazać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy spłukać powierzchnie wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Roztwory chloru mogą powodować powstawanie wżerów na elementach wyposażenia, w tym elementach metalowych. Aby uniknąć powstawania wżerów, należy dokładnie spłukiwać wyposażenie wodą.

2. Głowica aspiracyjna systemu TCS

- a. Umieścić nową kasetę dziesięciokońcówkową (TTC) w przeznaczonym na nią statywie. Włączyć pompę próżniową. Połączyć głowicę aspiracyjną z końcówkami w kasecie TTC. Zaaspirować cały roztwór do płukania pozostały w zbiorniku do napełniania stacji dozowania roztworu do płukania. (Odsunąć kolektor dozowania tak, by nie przeszkadzał.)
- b. Do rynny do wstępnego napełniania wlać co najmniej 100 mL roztworu podchlorynu sodu o stężeniu od 0,5% do 0,7% (od 0,07 M do 0,1 M) albo, jeśli takie stężenie jest preferowane, od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Zaaspirować cały roztwór przez głowicę aspiracyjną.
- c. Wlać co najmniej 100 mL wody dejonizowanej do rynny do wstępnego napełniania. Zaaspirować całą wodę przez głowicę aspiracyjną.
- d. Zdjąć końcówki, umieszczając je w pierwotnej kasecie TTC.
- e. Nie wyłączać pompy próżniowej, dopóki przewody kolektora nie będą suche, aby nie dochodziło do przepływu wstecznego.
- f. Odkazać powierzchnie głowicy aspiracyjnej zgodnie z instrukcją (patrz *System TCS*).

3. Pojemnik na odpady systemu TCS

Gdy butelka na odpady jest wypełniona w 25% lub co tydzień, wyjąć butelkę na odpady z systemu wychwytywania cząsteczek szukanych.

- a. Wyłączyć pompę próżniową i poczekać na wyrównanie podciśnienia.
- b. Zwolnić szybkozłączki między butelką na odpady a butelką przelewową oraz między butelką na odpady a głowicę aspiracyjną.
- c. Wyjąć butelkę na odpady z obudowy syfonu próżniowego.
- d. Zdjąć zakrętkę i ostrożnie dołączyć 400 mL roztworu podchlorynu sodu o stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M) do butelki (o pojemności 1 L, jeśli używa się butelki na odpady o pojemności 10 L).

Uwaga: Czynność tę można wykonywać pod wyciągiem, aby uniknąć uwolnienia oparów do laboratorium.

- e. Zamknąć butelkę na odpady i dokładnie wymieszać zawartość delikatnym ruchem wirowym.

- f. Pozostawić butelkę nieruchomo na 15 minut, a następnie zutylizować zawartość (odpady).
 - g. Przepłukać butelkę na odpady wodą i usunąć z niej wszelkie odpady.
 - h. Zamknąć pustą butelkę na odpady i umieścić w obudowie syfonu próżniowego. Podłączyć szybkozłączki do systemu TCS. Ostrożnie wyrzucić obie rękawiczki.
4. System TCS
- Przetrzeć powierzchnie obudowy systemu TCS, głowicy aspiracyjnej i końcówek podających bufor do płukania ręcznikami papierowymi zwilżonymi roztworem podchlorynu sodu o stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Po czyszczeniu podchlorynem sodu opłukać wodą, a następnie całkowicie osuszyć powierzchnie ręcznikami papierowymi.
5. Statywy
- Zanurzyć statywy w roztworze podchlorynu sodu o stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M), dbając o to, by w całości znalazły się pod powierzchnią roztworu podchlorynu sodu. Pozostawić statywy zanurzone przez 10 minut. Dłuższa ekspozycja może spowodować uszkodzenie statywów. Spłukać statywy dokładnie wodą, umieścić je na czystej, chłonnej podkładce i pozostawić do wyschnięcia na powietrzu. Aby przedłużyć żywotność statywów, należy pozostawić je do wyschnięcia w pozycji pionowej, nie do góry nogami.
- I. Skażenie testu
1. Brak należytej staranności podczas wykonywania protokołu analizy może być przyczyną wprowadzenia substancji skażających.
 2. Wymagane jest odkażanie zestawów dziesięcioprobówkowych (TTU), zgodnie z *Detekcja*. Nie wolno ponownie używać zestawów TTU.
 3. Należy regularnie odkażać wyposażenie i powierzchnie robocze zgodnie z instrukcjami przedstawionymi w *Uwagi dotyczące procedury, Odkażanie*.
 4. Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników, nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować kontaminację otwartych próbek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.
- J. Protokół monitorowania kontaminacji laboratoryjnej w systemach DTS
- Istnieje wiele czynników specyficznych dla laboratorium mogących przyczyniać się do kontaminacji, wliczając w to objętość badania, przebieg pracy, częstość występowania chorób i różne inne czynności laboratoryjne. Należy uwzględnić te czynniki przy ustalaniu częstości monitorowania kontaminacji. Przedziały czasowe dla monitorowania kontaminacji należy ustalić na podstawie praktyk i procedur każdego laboratorium.
- Aby monitorować kontaminację laboratoryjną, można wykonać przy użyciu zestawu do pobierania próbek wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex następującą procedurę:
1. Oznaczyć próbki transportowe wymazów numerami odpowiadającymi obszarom, które mają być testowane.
 2. Wyjąć próbkę wymazu (wymazówka z niebieskim trzonkiem i zielonym nadrukiem) z opakowania, zwilżyć wymazówkę w podłożu transportowym do wymazów i kolistym ruchem nanieść wymaz na oznaczony obszar.
 3. Natychmiast włożyć wymazówkę do próbki transportowej.
 4. Ostrożnie złamać trzonek wymazówki na linii nacięcia, uważając, aby nie rozpryskiwać zawartości.

5. Zamknąć szczelnie próbkę do transportu wymazówki.
6. Powtórzyć Etapy 2 do 5 dla każdego obszaru, który ma być wymazany.
7. Z badać wymaz przy użyciu testu Aptima CT zgodnie z *Procedura testu w systemach DTS*.

Jeżeli wyniki są dodatnie dla CT lub niejednoznaczne (patrz *Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent*), powierzchnia może być skażona i powinna zostać odkażona poprzez zastosowanie roztworu podchlorynu sodu zgodnie z zaleceniami podanymi w *Procedura testu w systemach DTS, Przygotowanie sprzętu*.

Uwaga: W przypadku podejrzenia skażenia łaźni wodnej, woda z łaźni może zostać zbadana przy użyciu procedury badania próbek moczu, poprzez dodanie 2,0 mL wody do próbki do transportu próbek moczu.

K. Diagnostyka i usuwanie usterek

1. Niskie wartości kontroli dodatniej mogą być spowodowane niewłaściwą temperaturą podczas różnych etapów testu lub wydłużeniem czasu selekcji w etapie selekcji ponad zalecany czas.
2. Wysokie tło może wystąpić, jeśli czas selekcji w etapie selekcji zostanie skrócony, temperatura selekcji nie jest prawidłowa lub po dodaniu odczynnika selekcyjnego nastąpi niewystarczające wymieszanie.
3. Jeśli kontrola dodatnia Aptima dla GC, oznaczona jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT” jest dodatnia lub niejednoznaczna dla CT, patrz *Uwagi dotyczące procedury, Skażenie testu*, aby uzyskać więcej informacji.

System Tigris DTS

Poniżej wymieniono odczynniki potrzebne do wykonania testu Aptima CT w systemie Tigris DTS. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Dostarczone odczynniki i materiały**Zestaw do testu Aptima na Chlamydia trachomatis**

100 testów (2 pudełka i 1 zestaw kontroli) (kat. nr 303091)

Skrzynia chłodnicza na testy Aptima Chlamydia trachomatis (Skrzynia 1 z 2)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	Odczynnik amplifikacji CT Aptima <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym < 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
E	Odczynnik enzymatyczny Aptima <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym < 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
P	Odczynnik-sonda CT Aptima <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 fiolka
TCR-B	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B Aptima <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 x 0,30 mL

Skrzynia do przechowywania w temperaturze pokojowej na testy Aptima Chlamydia trachomatis (Skrzynia 2 z 2)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
AR	Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji CT Aptima <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 x 11,9 mL
ER	Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych Aptima <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 6,3 mL
PR	Roztwór do przygotowania odczynników-sond CT Aptima <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający < 5% detergentu.</i>	1 x 15,2 mL

Skrzynia do przechowywania w temperaturze pokojowej na testy Aptima Chlamydia trachomatis (Skrzynia 2 z 2) (ciąg dalszy)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
S	Odczynnik selekcyjny Aptima <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 x 43,0 mL
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych CT Aptima <i>Buforowany roztwór soli zawierający fazę stałą i oligomery wychwytywające.</i>	1 x 26,0 mL
	Kołnierze do przygotowania odczynników	3
	Karta z kodami kreskowymi partii głównych	1 karta

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

Symbol	Element	Liczba sztuk
PCT/NGC	Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC Aptima <i>Niezakaźny kwas nukleinowy CT w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA dla 1 CT IFU (5 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL
PGC/NCT	Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT Aptima <i>Niezakaźny kwas nukleinowy GC w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA 50 komórek GC (250 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL

*Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu.

Materiały wymagane, ale dostępne osobno

Uwaga: Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.

	<u>Kat. Nr</u>
System Tigris DTS	105118
Zestaw płynów do testu Aptima <i>(Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima, odczynnik olejowy Aptima)</i>	302382
Zestaw Aptima Auto Detect	301048
Zestaw z płynem konserwującym do systemu Aptima	302380
Końcówki przewodzące o pojemności 1000 µL, z filtrem, wykrywające ciecz, jednorazowe	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan)
<i>Niektóre produkty nie są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania informacji na temat dostępności produktu w wybranym regionie należy skontaktować się z odpowiednim przedstawicielem.</i>	MME-04128
Zestaw wstępny do systemu Tigris DTS zawierający	301191
<i>Zestawy wieloprobówkowe (MTU)</i>	<i>104772-02</i>
<i>Zestaw worków na zużyte końcówki zasysające do MTU</i>	<i>900907</i>
<i>Ostony pojemników na odpady MTU</i>	<i>900931</i>
<i>Pokrywy pojemników na odpady MTU</i>	<i>105523</i>
Zestaw do transportu próbek Aptima <i>do stosowania z próbkami w roztworze PreservCyt</i>	301154C
Zestaw do transportu próbek Aptima – drukowalny <i>do stosowania z próbkami w roztworze PreservCyt</i>	PRD-05110
Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest	PRD-03546
Zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex	301041
Zestaw do pobierania próbek moczu Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	301040
Probówki transportowe Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	105575
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M)	—
Woda do systemu Tigris DTS <i>specyfikację zawiera Instrukcja obsługi systemu Tigris DTS</i>	—
Rękawiczki jednorazowe	—
Wzorzec kalibracji SysCheck	301078
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Zapasowe zakrętki do zestawów z 100 testami <i>Roztwory do przygotowania odczynnika amplifikacji, enzymatycznego i odczynnika-sondy</i>	— <i>CL0041 (100 zakrętek)</i>
<i>Odczynnik TCR i selekcyjny</i>	<i>501604 (100 zakrętek)</i>

Materiały opcjonalne

	<u>Kat. Nr</u>
Zestaw kontroli Aptima	301110
Wzmacniacz wybielacza do czyszczenia Hologic <i>do rutynowego czyszczenia powierzchni i sprzętu</i>	302101

Procedura testu w systemie Tigris DTS

Uwaga: Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS.

A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki i próbki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy spłukać powierzchnie wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię roboczą, na której będą przygotowywane odczynniki i próbki, czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.

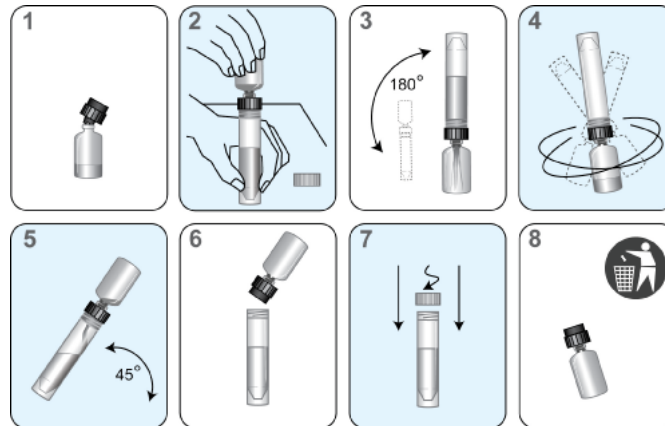
B. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

Uwaga: Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w systemie Tigris DTS.

1. Aby przygotować odczynniki amplifikacji CT, odczynniki enzymatyczne i odczynniki-sondy CT, należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynnikiem z zawartością butelek z roztworami do przygotowania. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodni, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do przygotowania odczynników osiągną temperaturę pokojową.
 - a. Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika. Przed założeniem kołnierza do przygotowania odczynników upewnić się, że roztwór do przygotowania i liofilizowany odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze.
 - b. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
 - c. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór fiolki (Rysunek 2, etap 1).
 - d. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - e. Trzymając buteleczkę z roztworem na stole, mocno wcisnąć drugi koniec kołnierza w otwór buteleczki (Rysunek 2, etap 2).
 - f. Powoli odwrócić połączone buteleczki. Poczekać, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 2, etap 3).
 - g. Delikatnie zataczać fiolkę koła w powietrzu, aby wymieszać jej zawartość. Nie dopuszczać do wytwarzania piany podczas mieszania zawartości fiolki ruchem wirowym (Rysunek 2, etap 4).
 - h. Odczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, następnie ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować powstawanie piany (Rysunek 2, etap 5). Odczekać, aż całość płynu z powrotem przesączy się do plastikowej buteleczki.

- i. Zdjąć kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 2, etap 6).
- j. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę.
 - W przypadku butelek na 100 testów należy zapisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników bezpośrednio na etykiecie (patrz Rysunek 3).
- k. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 2, etap 8).

Ostrzeżenie: *Unikać tworzenia piany podczas przygotowywania odczynników. Piana ma niekorzystny wpływ na detekcję poziomu w systemie Tigris DTS.*



Rysunek 2. Proces przygotowania w systemie Tigris DTS

2. Przygotować roboczy TCR CT (wTCR CT) dla zestawu 100 testów
 - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR CT i TCR-B.
 - b. Sprawdzić numery partii odczynników na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki z zestawu.
 - c. Otworzyć buteleczkę TCR CT i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - d. Otworzyć buteleczkę TCR-B i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR CT. Przewiduje się, że w buteleczce TCR-B pozostanie niewielka ilość płynu.
 - e. Zakręcić buteleczkę z TCR CT i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. Na tym etapie unikać tworzenia piany.
 - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
 - g. Wyrzucić buteleczkę TCR-B i zakrętkę.
3. Przygotować odczynnik selekcyjny
 - a. Sprawdź numer partii na butelce z odczynnikiem, aby upewnić się, że zgadza się on z numerem partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
 - b. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.

Uwaga: *Przed włożeniem do systemu dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.*

- C. Przygotowanie odczynników wcześniej przygotowanych
 1. Wcześniej przygotowane odczynniki amplifikacji CT, enzymatyczne i odczynniki-sondy CT muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C) przed rozpoczęciem testu.

2. Jeśli przygotowany odczynnik-sonda CT zawiera osad, który nie powraca do stanu roztworu w temperaturze pokojowej, należy podgrzewać zamkniętą butelkę w temperaturze nieprzekraczającej 62°C przez 1 do 2 minut. Po tym etapie ogrzewania odczynnik-sonda CT może być użyty, nawet jeśli pozostanie osad resztkowy. Przed załadowaniem do systemu wymieszać odczynnik-sondę CT przez jego odwracanie, uważając jednocześnie, aby nie spowodować powstania piany.
3. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając przed włożeniem do aparatu. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.
4. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. System Tigris DTS rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

D. Obchodzenie się z próbkami

1. Przed obróbką odczekać, aż kontrole i próbki osiągną temperaturę pokojową.
2. **Nie wytrząsać próbek.**
3. Wizualnie sprawdzić, czy każda probówka z próbką spełnia następujące kryteria:
 - a. Obecność pojedynczej niebieskiej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki unisex.
 - b. Obecność pojedynczej różowej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki wymazów Multitest lub z pochwy.
 - c. Końcowa objętość moczu pomiędzy czarnymi liniami napełnienia probówki transportowej do próbek moczu.
 - d. Brak wymazu w probówce transportowej na próbki Aptima w przypadku płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt.
4. Przed włożeniem do statywu sprawdzić probówki z próbkami:
 - a. Jeżeli probówka z próbką zawiera pęcherzyki między płynem a zakrętką, wirować probówkę przez 5 minut w 420 RCF w celu wyeliminowania pęcherzyków.
 - b. Jeżeli objętość materiału w probówce z próbką jest mniejsza niż zwykle obserwowana w sytuacji, gdy przestrzegano instrukcji pobierania, wirować probówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że pod zakrętką nie będzie płynu.
 - c. Jeżeli poziom płynu w probówce do pobierania próbek moczu nie znajduje się pomiędzy dwoma czarnymi liniami wskaźnika na etykiecie, próbka musi zostać odrzucona. Nie należy przekłuwać przepiętej probówki.
 - d. Jeśli próbka moczu zawiera osad, podgrzewać próbkę w temperaturze 37°C przez maksymalnie 5 minut. Jeśli wytrącony osad nie rozpuści się z powrotem w roztworze, wizualnie upewnić się, że nie przeszkodzi w podawaniu próbki.

Uwaga: Pominięcie etapów 4a-c może spowodować wyciek cieczy spod zakrętki probówki.

Uwaga: Z każdej probówki z próbką można poddać badaniu maksymalnie 3 odrębne porcje. Próby pobrania pipetą więcej niż 3 porcji z probówki z próbką mogą doprowadzić do błędów wynikających ze zbyt małej objętości.

E. Przygotowanie systemu

Skonfigurować system i listę roboczą zgodnie z instrukcjami zawartymi w *Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS* oraz *Uwagi dotyczące procedury*.

Uwagi dotyczące procedury

A. Kontrole

1. Do prawidłowej pracy z oprogramowaniem testu Tigris Aptima wymagane są kontrole początkowe i końcowe. Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT musi znajdować się na pierwszej i przedostatniej pozycji listy roboczej. Etykieta tej kontroli ma kolor niebiesko-zielony. Tekst etykiety to „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”. Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC musi znajdować się na drugiej i ostatniej pozycji listy roboczej. Etykieta tej kontroli ma kolor różowy. Tekst etykiety to „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC”.
2. Każdą rurkę kontrolną Aptima można użyć w teście jeden raz. Próba pobrania pipetą z próbki więcej niż jeden raz może doprowadzić do błędów wynikających z niewystarczającej objętości.

B. Temperatura

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

C. Puder z rękawiczek

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

D. Protokół monitorowania kontaminacji laboratoryjnej w systemie Tigris DTS

Istnieje wiele czynników specyficznych dla laboratorium mogących przyczyniać się do kontaminacji, wliczając w to objętość badania, przebieg pracy, częstość występowania chorób i różne inne czynności laboratoryjne. Należy uwzględnić te czynniki przy ustalaniu częstości monitorowania kontaminacji. Przedziały czasowe dla monitorowania kontaminacji należy ustalić na podstawie praktyk i procedur każdego laboratorium.

Aby monitorować kontaminację laboratoryjną, można wykonać przy użyciu zestawu do pobierania próbek wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex następującą procedurę:

1. Oznaczyć próbki transportowe wymazów numerami odpowiadającymi obszarom, które mają być testowane.
2. Wyjąć próbkę wymazu (wymazówka z niebieskim trzonkiem i zielonym nadrukiem) z opakowania, zwilżyć wymazówkę w podłożu transportowym do wymazów i kolistym ruchem nanieść wymaz na oznaczony obszar.
3. Natychmiast włożyć wymazówkę do próbki transportowej.
4. Ostrożnie złamać trzonek wymazówki na linii nacięcia, uważając, aby nie rozpryskiwać zawartości.
5. Zamknąć szczelnie próbkę do transportu wymazówki.
6. Powtórzyć etapy od 2 do 5 dla każdego obszaru, który ma być wymazany.

Jeżeli wyniki są dodatnie lub niejednoznaczne dla CT, patrz *Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent*. Dodatkowe informacje na temat monitorowania kontaminacji, specyficzne dla systemu Tigris DTS, można znaleźć w *Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS*.

Panther System

Poniżej wymieniono odczynniki potrzebne do wykonania testu Aptima CT w Panther System. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Dostarczone odczynniki i materiały

Zestaw testów Aptima Chlamydia trachomatis, 100 testów (2 opakowania i 1 zestaw kontroli) (kat. nr 302925)

Skrzynia chłodnicza na testy Aptima Chlamydia trachomatis (Skrzynia 1 z 2)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	Odczynnik amplifikacji CT Aptima <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym < 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
E	Odczynnik enzymatyczny CT Aptima <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym < 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
P	Odczynnik-sonda CT Aptima <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 fiolka
TCR-B	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B CT Aptima <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 x 0,30 mL

Skrzynia do przechowywania w temperaturze pokojowej na testy Aptima Chlamydia trachomatis (Skrzynia 2 z 2)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
AR	Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji CT Aptima <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 x 11,9 mL
ER	Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych CT Aptima <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 6,3 mL
PR	Roztwór do przygotowania odczynników-sond CT Aptima <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający < 5% detergentu.</i>	1 x 15,2 mL
S	Odczynnik selekcyjny CT Aptima <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 x 43,0 mL

Skrzynia do przechowywania w temperaturze pokojowej na testy Aptima Chlamydia trachomatis (Skrzynia 2 z 2)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych CT Aptima <i>Buforowany roztwór soli zawierający fazę stałą i oligomery wychwytyjące.</i>	1 x 26,0 mL
	Kołnierze do przygotowania odczynników	3
	Karta z kodami kreskowymi partii głównych	1 karta

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

Symbol	Element	Liczba sztuk
PCT/NGC	Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC Aptima <i>Niezakaźny kwas nukleinowy CT w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA dla 1 CT IFU (5 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL
PGC/NCT	Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT Aptima <i>Niezakaźny kwas nukleinowy GC w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA 50 komórek GC (250 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL

*Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu.

Materiały wymagane, ale dostępne osobno

Uwaga: Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.

	<u>Kat. Nr</u>
Panther System	303095
Zestaw płynów do testu Aptima <i>(Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima, odczynnik olejowy Aptima)</i>	303014 (1000 testów)
Zestaw Aptima Auto Detect	303013 (1000 testów)
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther	902731
Ośłona pojemnika na odpady Panther	504405
Lub zestaw Panther Run <i>zawiera zestawy MTU, torby na odpady, pokrywy pojemników na odpady, płyny testowe i odczynniki Auto Detect</i>	303096 (5000 testów)

Końcówki przewodzące o pojemności 1000 µL, z filtrem, wykrywające ciecż, jednorazowe	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
<i>Niektóre produkty nie są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania informacji na temat dostępności produktu w wybranym regionie należy skontaktować się z odpowiednim przedstawicielem.</i>	
Zestaw do transportu próbek Aptima <i>do stosowania z próbkami w roztworze PreservCyt</i>	301154C
Zestaw do transportu próbek Aptima – drukowalny <i>do stosowania z próbkami w roztworze PreservCyt</i>	PRD-05110
Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest	PRD-03546
Zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex	301041
Zestaw do pobierania próbek moczu Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	301040
Probówki transportowe Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	105575
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M)	—
Rękawiczki jednorazowe	—
Wzorzec kalibracji SysCheck	301078
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Zapassowe zakrętki do zestawów z 100 testami	—
<i>Roztwory do przygotowania odczynników amplifikacji, enzymatycznego i sondy</i>	CL0041 (100 zakrętek)
<i>Odczynnik TCR i selekcyjny</i>	501604 (100 zakrętek)

Materiały opcjonalne

	<u>Kat. Nr</u>
Zestaw kontroli Aptima	301110
Wzmacniacz wybielacza do czyszczenia Hologic <i>do rutynowego czyszczenia powierzchni i sprzętu</i>	302101

Procedura testu w Panther System

Uwaga: Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w Instrukcji obsługi Panther System.

A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki i próbki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy spłukać powierzchnie wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię roboczą, na której będą przygotowywane odczynniki i próbki, czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.

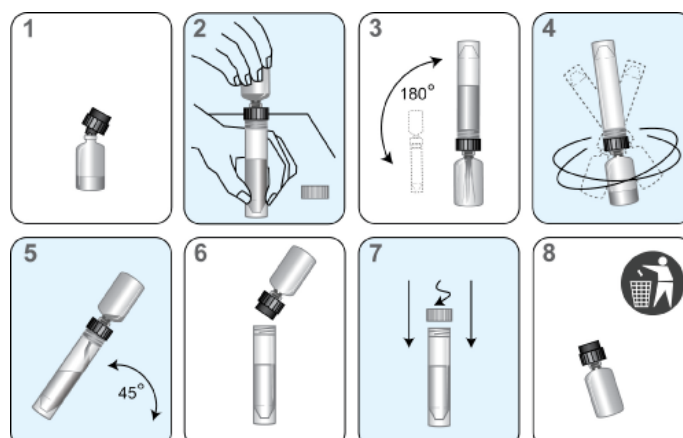
B. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

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

1. Aby przygotować odczynniki amplifikacji CT, odczynniki enzymatyczne CT i odczynniki-sondy CT, należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynniami z zawartością butelek z roztworami do przygotowania. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodziarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do przygotowania odczynników osiągną temperaturę pokojową.
 - a. Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika. Przed założeniem kołnierza do przygotowania odczynników upewnić się, że roztwór do przygotowania odczynników i odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze.
 - b. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
 - c. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór fiolki (Rysunek 3, etap 1).
 - d. Otworzyć butelkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania odczynników i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - e. Trzymając buteleczkę z roztworem do przygotowania (rekonstytucji) odczynników na stole, mocno wcisnąć drugi koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór buteleczki (Rysunek 3, etap 2).
 - f. Powoli odwrócić połączone buteleczki. Poczekać, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 3, etap 3).
 - g. Dokładnie wymieszać roztwór w szklanej fiolce, wykonując ruch kolisty ręką (Rysunek 3, etap 4).
 - h. Odczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, następnie ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować tworzenie się piany (Rysunek 3, etap 5). Odczekać, aż całość płynu z powrotem przesączy się do plastikowej buteleczki.
 - i. Zdjąć kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 3, etap 6).
 - j. Nałożyć zakrętkę na plastikową buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 3, etap 7).
 - k. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 3, etap 8).

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

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



Rysunek 3. Proces przygotowania w Panther System

2. Przygotować odczynnik wTCR CT
 - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR CT i TCR-B.
 - b. Sprawdzić numery partii odczynników na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki z zestawu.
 - c. Otworzyć buteleczkę TCR CT i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - d. Otworzyć buteleczkę TCR-B i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR CT. Przewiduje się, że w buteleczce TCR-B pozostanie niewielka ilość płynu.
 - e. Zakręcić buteleczkę z TCR CT i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. Na tym etapie unikać tworzenia piany.
 - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
 - g. Wyrzucić buteleczkę TCR-B i zakrętkę.
3. Przygotować odczynnik selekcyjny
 - a. Sprawdź numer partii na butelce z odczynnikiem, aby upewnić się, że zgadza się on z numerem partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
 - b. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.

Uwaga: Przed włożeniem do systemu dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.

- C. Przygotowanie odczynników wcześniej przygotowanych
 1. Wcześniej przygotowane odczynniki amplifikacji, enzymatyczne i odczynniki-sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C) przed rozpoczęciem testu.
 2. Jeśli przygotowany odczynnik-sonda CT zawiera osad, który nie powraca do stanu roztworu w temperaturze pokojowej, należy podgrzewać zamkniętą butelkę w temperaturze nieprzekraczającej 62°C przez 1 do 2 minut. Po tym etapie ogrzewania odczynnik-sonda CT może być użyty, nawet jeśli pozostanie osad resztkowy. Przed załadowaniem do systemu wymieszać odczynnik-sondę CT przez jego odwracanie, uważając jednocześnie, aby nie spowodować powstania piany.
 3. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając przed włożeniem do aparatu. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.

4. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. System Panther rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

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

D. Obchodzenie się z próbkami

1. Przed obróbką odczekać, aż kontrole i próbki osiągną temperaturę pokojową.
2. **Nie wytrząsać próbek.**
3. Wizualnie sprawdzić, czy każda probówka z próbką spełnia następujące kryteria:
 - a. Obecność pojedynczej niebieskiej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki unisex.
 - b. Obecność pojedynczej różowej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki wymazów Multitest lub z pochwy.
 - c. Końcowa objętość moczu pomiędzy czarnymi liniami napełnienia probówki transportowej do próbek moczu.
 - d. Brak wymazu w probówce transportowej na próbki Aptima w przypadku płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt.
4. Przed włożeniem do statywu sprawdzić probówki z próbkami:
 - a. Jeżeli probówka z próbką zawiera pęcherzyki między płynem a zakrętką, wirować probówkę przez 5 minut w 420 RCF w celu wyeliminowania pęcherzyków.
 - b. Jeżeli objętość materiału w probówce z próbką jest mniejsza niż zwykle obserwowana w sytuacji, gdy przestrzegano instrukcji pobierania, wirować probówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że pod zakrętką nie będzie płynu.
 - c. Jeżeli poziom płynu w probówce do pobierania próbek moczu nie znajduje się pomiędzy dwoma czarnymi liniami wskaźnika na etykiecie, próbka musi zostać odrzucona. Nie należy przekłuwać przepełnionej probówki.
 - d. Jeśli próbka moczu zawiera osad, podgrzewać próbkę w temperaturze 37°C przez maksymalnie 5 minut. Jeśli wytrącony osad nie rozpuści się z powrotem w roztworze, wizualnie upewnić się, że nie przeszkodzi w podawaniu próbki.

Uwaga: Pominięcie etapów 4a-c może spowodować wyciek cieczy spod zakrętki probówki.

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

E. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z instrukcjami, które zawiera *Instrukcja obsługi Panther System* oraz *Uwagi dotyczące procedury*. Sprawdzić, czy stosowane są statywy na odczynniki o odpowiedniej wielkości oraz adaptory TCR.
2. Załadować próbki.

Uwagi dotyczące procedury

A. Kontrole

1. Aby system Panther, używany z oprogramowaniem do testów Aptima, działał prawidłowo, wymagana jest jedna para kontroli. Probówki Kontroli Dodatniej, CT / Kontroli Ujemnej, GC i Kontroli Dodatniej, GC / Kontroli Ujemnej CT mogą być załadowane w każdej pozycji statywu lub na każdym torze wewnątrz na próbki w

systemie Panther. Pipetowanie próbek pacjenta rozpocznie się, gdy zostanie spełniony jeden z następujących dwóch warunków:

- a. Obecnie system przetwarza parę kontroli.
 - b. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kontroli.
2. Po pipetowaniu probówek kontrolnych i przetwarzaniu ich na określony zestaw odczynników, próbki pacjentów można analizować z powiązaniem zestawem odczynników analitycznych do 24 godzin, **chyba że**:
- a. Wyniki kontroli są nieważne.
 - b. Usunięto z systemu powiązany zestaw odczynników analitycznych.
 - c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
3. Każdą rurkę kontrolną Aptima można użyć w teście jeden raz. Próby pipetowania więcej niż jeden raz z próbówki mogą doprowadzić do błędów w czasie pracy.

B. Temperatura

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

C. Puder z rękawiczek

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

D. Protokół monitorowania kontaminacji laboratoryjnej w Panther System

Istnieje wiele czynników specyficznych dla laboratorium mogących przyczyniać się do kontaminacji, wliczając w to objętość badania, przebieg pracy, częstość występowania chorób i różne inne czynności laboratoryjne. Należy uwzględnić te czynniki przy ustalaniu częstości monitorowania kontaminacji. Przedziały czasowe dla monitorowania kontaminacji należy ustalić na podstawie praktyk i procedur każdego laboratorium.

Aby monitorować kontaminację laboratoryjną, można wykonać przy użyciu zestawu do pobierania próbek wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex następującą procedurę:

1. Oznaczyć próbki transportowe wymazów numerami odpowiadającymi obszarom, które mają być testowane.
2. Wyjąć wymazówkę do pobierania próbki (wymazówka z niebieskim trzonkiem i zielonym nadrukiem) z opakowania, zwilżyć wymazówkę w podłożu do transportu próbek (STM) i kolistym ruchem pobrać wymaz z wyznaczonego obszaru.
3. Natychmiast włożyć wymazówkę do próbki transportowej.
4. Ostrożnie złamać trzonek wymazówki na linii nacięcia, uważając, aby nie rozpryskiwać zawartości.
5. Zamknąć szczelnie próbkę do transportu wymazówki.
6. Powtórzyć etapy od 2 do 5 dla każdego obszaru, który ma być wymazany.

Jeżeli wyniki są dodatnie lub niejednoznaczne dla CT, patrz *Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent*. W celu uzyskania dodatkowych informacji dotyczących monitorowania kontaminacji specyficznej dla systemu Panther, należy skontaktować się z pomocą techniczną firmy Hologic.

Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent

A. Interpretacja testu

Wyniki testów są automatycznie interpretowane przez oprogramowanie testu Aptima przy użyciu protokołu CT. Wynik testu może być ujemny, niejednoznaczny, dodatni lub nieważny, jak określono na podstawie łącznych RLU w etapie wykrywania (patrz poniżej). Wynik testu może być nieważny ze względu na wartości RLU wykraczające poza normalne oczekiwane zakresy. Próbkę z początkowo niejednoznacznym i nieważnym wynikiem należy ponownie zbadać.

Interpretacja testu	Łączne RLU (x1000)
Ujemny	0* do < 50
Niejednoznaczny	50 do < 100
Dodatni o niskim RLU ^{1,2,3}	100 do < 5 000
Dodatni ^{1,2}	5 000 do < 12 000
Nieważny	0* lub > 12 000

* Zerowy (0 x 1000) wynik RLU w raporcie z badania reprezentuje wartość pomiędzy zero a 999 RLU. Wartości RLU mniejsze niż 160 w systemach DTS lub 690 w systemach Tigris DTS lub w systemie Panther będą zgłaszane jako nieważne.

¹ Zgodnie z wytycznymi CDC: „należy rozważyć rutynowe wykonanie dodatkowych badań u osób z dodatnimi wynikami testów przesiewowych CT lub GC, jeśli informacje o czynnikach ryzyka lub rzeczywiste badania wskazują, że częstość występowania jest niska, co skutkuje niższą wartością PPV (np. < 90%).” Szczegółowe informacje na temat dodatkowych badań i postępowania z pacjentem po uzyskaniu dodatniego wyniku testu przesiewowego znajdują się w wytycznych CDC (4).

² Rozkład wyników RLU znajduje się w Tabeli 3. Wielkość RLU nie jest wskaźnikiem poziomu obecności mikroorganizmu w próbce.

³ W zakresie wyników dodatnich o niskim RLU, dane sugerują, że wyniki dodatnie należy interpretować ostrożnie, ze świadomością, że prawdopodobieństwo fałszywego wyniku dodatniego może być wyższe niż prawdziwego wyniku dodatniego.

B. Wyniki kontroli jakości i akceptowalność

Kontrola ujemna Aptima dla CT, która jest oznaczona jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT” oraz kontrola dodatnia Aptima dla CT, która jest oznaczona jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC”, działają jako kontrole dla etapów wychwytywania, amplifikacji i wykrywania cząsteczek szukanych w teście. Zgodnie z wytycznymi lub wymaganiami lokalnych, stanowych i/lub federalnych przepisów lub organizacji akredytujących, mogą być włączone dodatkowe kontrole dla lizy komórek i stabilizacji RNA. Kontrola ujemna dla CT, która jest oznaczona jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”, zawiera niezakażony GC rRNA. W razie potrzeby dodatkowe elementy sterujące można zamówić jako zestaw. Patrz *Materiały opcjonalne*. Prawidłowe przygotowanie próbek jest potwierdzone wizualnie poprzez obecność pojedynczej wymazówki do pobierania próbek Aptima w próbówce do transportu próbek, końcowej objętości moczu pomiędzy czarnymi kreskami napełnienia próbówki do transportu próbek moczu lub braku wymazówki w próbówce do transportu próbek Aptima dla płynnych próbek Pap.

Kontrole dodatkowo muszą dawać następujące wyniki badań:

Kontrola	Łączne RLU (x1000)	Wynik CT
Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT	0* oraz < 50	Ujemny
Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC	≥ 100 oraz < 12 000	Dodatni

* Zerowy (0 x 1000) wynik RLU w raporcie z badania reprezentuje wartość pomiędzy zero a 999 RLU. Wartości RLU mniejsze niż 160 w systemach DTS lub 690 w systemach Tigris DTS lub w systemie Panther będą zgłaszane jako nieważne.

1. Oprogramowanie testu Aptima automatycznie ocenia kontrole zgodnie z powyższymi kryteriami i sygnalizuje, że Seria ma stan PASS (ZALICZONA), jeśli spełnione są kryteria ważności serii, albo FAIL (NIEZALICZONA), jeśli kryteria kontroli serii nie są spełnione.
2. Jeśli wskazanie Run Status (Stan serii) jest równe FAIL (NIEZALICZONA), wszystkie wyniki testu w tej serii są nieważne i nie wolno ich zgłaszać.
3. Każde laboratorium powinno wdrożyć odpowiednie procedury kontrolne, aby spełnić wymagania przepisów CLIA (sekcja 493.1256).

Uwaga: Aby uzyskać pomoc dotyczącą kontroli poza zakresem w systemach DTS, patrz Diagnostyka i usuwanie usterek lub skontaktuj się z działem pomocy technicznej firmy Hologic.

4. Parametr systemu Tigris DTS pozwala każdemu ośrodkowi określić częstotliwość „pomocniczej serii kontrolnej”, dzięki której dodatkowe zestawy kontroli mogą być umieszczane w określonych odstępach w ramach listy roboczej. Jeśli ten parametr jest określony, system Tigris DTS będzie wymagał umieszczenia zestawu kontroli po określonej liczbie próbek grupy kontrolnej. System Tigris DTS automatycznie ocenia każdą kontrolę na liście roboczej zgodnie z powyższymi kryteriami i unieważnia wszystkie próbki w danej grupie kontrolnej, jeśli kryteria kontroli nie są spełnione. Dodatkowe informacje znajdują się w *Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS*.
5. Kontrole ujemne mogą nie być skuteczne w monitorowaniu losowego przenoszenia. Patrz *Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS*, aby zapoznać się z wynikami analitycznego badania przenoszenia o wysokim stężeniu cząsteczek szukanych, które przeprowadzono w celu wykazania kontroli przenoszenia w systemie Tigris DTS. Patrz *Skuteczność analityczna systemu Panther*, aby zapoznać się z wynikami analitycznego badania przenoszenia o wysokim stężeniu cząsteczek szukanych, które przeprowadzono w celu wykazania kontroli przenoszenia w systemie Panther.

C. Kontrola przygotowania próbki (opcjonalnie)

Kontrola ujemna Aptima dla CT, która jest oznaczona jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”, oraz kontrola dodatnia Aptima dla CT, która jest oznaczona jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC”, działają jako kontrole dla etapów wychwytywania, amplifikacji i wykrywania cząsteczek szukanych w teście i muszą znajdować się w każdej serii testu. Jeśli jest to pożądane, kontrole dla lizy komórek i stabilizacji RNA mogą być testowane zgodnie z wymaganiami odpowiednich organizacji akredytujących lub indywidualnych procedur laboratoryjnych. Znane próbki dodatnie mogą służyć jako kontrole poprzez ich przygotowanie i badanie w połączeniu z nieznanymi próbkami. Próbki używane jako kontrole przygotowawcze muszą być przechowywane, przenoszone i testowane zgodnie z ulotką dołączoną do opakowania. Kontrole przygotowania próbek powinny być interpretowane w taki sam sposób, jak opisano dla próbek testowych od pacjentów. Patrz *Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent, Wyniki badań pacjentów*.

D. Wyniki badań pacjentów

1. Jeżeli kontrole w dowolnej serii nie przyniosą oczekiwanych wyników, wyniki testów na próbkach pobranych od pacjentów w tej samej serii nie mogą być zgłaszane.
2. Wyniki badań wymazów, moczu i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. Patrz *Uwagi* poniżej.
 - a. Wyniki wstępne

CT Dod.*	Dodatni dla rRNA CT.
CT Ujem.	Uznawany za ujemny dla rRNA CT.
CT Niejedn.	Próbkę należy przebadać ponownie.
Nieważny	Próbkę należy przebadać ponownie.

b. Wyniki ponownego badania

CT Dod.*	Dodatni dla rRNA CT.
CT Ujem.	Uznawany za ujemny dla rRNA CT.
CT Niejedn.	Nieokreślony, należy pobrać nową próbkę.
Nieważny	Nieokreślony, należy pobrać nową próbkę.

*Do tej kategorii zalicza się próbki dodatnie o niskim RLU. Patrz *Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent* powyżej.

Uwagi

- Pierwszy ważny, jednoznaczny wynik dla każdego analitu jest wynikiem, który powinien zostać zgłoszony.
- Przy interpretacji wyników testu Aptima CT u osób bezobjawowych lub jakichkolwiek osób w populacjach o niskiej częstości występowania zaleca się staranne rozważenie danych dotyczących skuteczności.
- Wynik ujemny nie wyklucza obecności zakażenia CT, ponieważ wyniki zależą od odpowiedniego pobrania próbki, braku inhibitorów i wystarczającej do wykrycia ilości rRNA. Na wyniki testu może mieć wpływ niewłaściwe pobranie próbki, niewłaściwe przechowywanie próbki, błąd techniczny, pomylenie próbek lub poziom cząsteczek szukanych poniżej granicy wykrywalności testu.
- Badanie próbki z kanału szyjki macicy jest zalecane u kobiet, u których klinicznie podejrzewa się infekcję chlamydialną lub gonokokową. Jeśli pobierane są zarówno próbki Pap, jak i wymaz z kanału szyjki macicy, płynną próbkę Pap w roztworze PreservCyt należy pobrać przed próbką wymazu z kanału szyjki macicy.

Ograniczenia

- A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie instrukcji przedstawionych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- B. Nie oceniano wpływu stosowania tamponów, irygacji oraz zmiennych związanych z pobieraniem próbek na wykrywanie CT.
- C. Obecność śluzu w próbkach pobranych z kanału szyjki macicy nie wpływa na wykrywanie CT przy użyciu testu Aptima CT. Jednakże, aby zapewnić zebranie komórek zakażonych CT, należy pobrać nabłonki walcowate wyściełające kanał szyjki macicy. Jeśli nadmiar śluzu nie zostanie usunięty, nie można zagwarantować pobrania próbki tych komórek.
- D. Pobieranie próbek moczu, wymazu z pochwy i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt nie zastępuje badania szyjki macicy i próbek z kanału szyjki macicy w diagnostyce infekcji układu moczowo-płciowego u kobiet. U pacjentek może wystąpić zapalenie szyjki macicy, zapalenie cewki moczowej, zakażenia dróg moczowych lub zakażenia pochwy spowodowane innymi czynnikami lub współistniejące zakażenia innymi czynnikami.
- E. Test Aptima CT nie służy do oceny podejrzeń o wykorzystywanie seksualne ani do innych wskazań medyczno-prawnych. Dla tych pacjentek, dla których fałszywie dodatni wynik może mieć niekorzystne skutki psychospołeczne, CDC zaleca ponowne badanie metodą z wykorzystaniem alternatywnej technologii (4).
- F. Wiarygodność wyników zależy od właściwego pobrania próbek. Ponieważ system transportowy używany na potrzeby tego testu nie umożliwia mikroskopowej oceny próbek pod kątem ich przydatności, niezbędne jest przeszkolenie lekarzy we właściwych technikach pobierania próbek. Patrz ulotka dołączona do opakowania odpowiedniego zestawu do pobierania próbek Aptima.
- G. Za pomocą testu Aptima CT nie można określić niepowodzenia lub sukcesu terapeutycznego, ponieważ kwas nukleinowy może utrzymywać się po zastosowaniu odpowiedniej terapii przeciwbakteryjnej.
- H. Wyniki testu Aptima CT należy interpretować w powiązaniu z innymi danymi laboratoryjnymi i klinicznymi dostępnymi dla lekarza.
- I. Wynik ujemny nie wyklucza możliwości wystąpienia infekcji, ponieważ wynik testu jest uzależniony od prawidłowego pobrania próbki. Na wyniki testu może mieć wpływ niewłaściwe pobranie próbki, błąd techniczny, pomylenie próbek lub poziom cząsteczek szukanych poniżej granicy wykrywalności testu.
- J. Wyniki testu Aptima CT mają charakter jakościowy. Dlatego nie można zakładać istnienia korelacji między intensywnością dodatniego sygnału w teście a liczbą mikroorganizmów w badanej próbce.
- K. W przypadku badań klinicznych wymazu z pochwy, wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej i próbki moczu, skuteczność w wykrywaniu CT jest oparta na populacjach o wysokiej częstości występowania. Dodatkowo wyniki w populacjach o niskiej częstości występowania należy interpretować ostrożnie, ze świadomością, że prawdopodobieństwo fałszywego wyniku dodatniego może być wyższe niż prawdziwego wyniku dodatniego.

- L. W przypadku badań klinicznych nad płynnymi próbkami Pap w roztworze PreservCyt, skuteczność testu Aptima CT w wykrywaniu CT została oparta głównie na populacjach o niskiej częstości występowania. Niemniej jednak, dodatnie wyniki w populacjach o niskiej częstości występowania należy interpretować ostrożnie, ze świadomością, że prawdopodobieństwo fałszywego wyniku dodatniego może być wyższe niż prawdziwego wyniku dodatniego.
- M. Skuteczność zestawu do przenoszenia próbek Aptima nie została oceniona w przypadku badania tej samej płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt zarówno przed, jak i po przetworzeniu Pap z użyciem ThinPrep.
- N. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt, przetwarzane przy użyciu urządzeń innych niż urządzenie ThinPrep 2000, nie zostały ocenione pod kątem zastosowania w testach Aptima.
- O. Próbki wymazu z pochwy pobrane przez pacjentki są opcją dla badań przesiewowych kobiet, gdy nie ma innych wskazań do badania miednicy.
- P. Użycie próbki w postaci wymazu z pochwy pobranej przez pacjentkę jest ograniczone do placówek medycznych, w których dostępne jest wsparcie/doradztwo w zakresie procedur i środków ostrożności podczas pobierania próbek tego typu.
- Q. Test Aptima CT nie został zatwierdzony do stosowania z próbkami wymazów z pochwy pobranymi przez pacjentki w domu.
- R. Skuteczność wyników dla próbki wymazu z pochwy nie ustalono u kobiet w ciąży.
- S. Wyniki badania próbek wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i cewki moczowej mężczyzn, próbek moczu mężczyzn i kobiet oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt nie zostały ocenione u młodzieży w wieku poniżej 16 lat.
- T. Skuteczność systemu Tigris DTS nie została sprawdzona na wysokościach powyżej 2240 m (7355 stóp) n.p.m. Przed lub w ramach procesu instalacji i odbioru w laboratoriach znajdujących się na wysokości powyżej 2240 m (7355 stóp) zostaną przeprowadzone dodatkowe weryfikacje objętościowe i badania specyficzne dla danego testu.
- U. Skuteczność systemu Panther nie została sprawdzona na wysokościach powyżej 2000 m (6561 stóp) n.p.m.
- V. Nie stwierdzono degradacji kwasów nukleinowych w roztworze PreservCyt. Jeżeli płynna próbka Pap w roztworze PreservCyt zawiera małą ilość materiału komórkowego CT, może dojść do nierównomiernego rozłożenia tego materiału komórkowego. Również, w porównaniu z bezpośrednim pobieraniem próbek przy użyciu podłoża transportowego do wymazów Aptima, dodatkowa objętość roztworu PreservCyt może być przyczyną większego rozcieńczenia materiału próbki. Czynniki te mogą mieć wpływ na możliwość wykrycia małej liczby mikroorganizmów w zebranych materiale. Jeśli ujemne wyniki badania próbki nie są zgodne z oceną kliniczną, może być konieczne pobranie nowej próbki.
- W. Klienci muszą niezależnie zweryfikować proces przesyłania danych do systemu LIS.

Wyniki badania klinicznego

Skuteczność testu Aptima CT została potwierdzona w dwóch wielośrodkowych badaniach klinicznych przeprowadzonych w Ameryce Północnej. W pierwszym badaniu klinicznym przeprowadzono dwa badania. W pierwszej kolejności, badanie próbek klinicznych określiło czułość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima CT, wykorzystując pobrane przez lekarza próbki wymazu z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej, próbki wymazu z pochwy pobrane przez pacjentki oraz próbki moczu kobiet i mężczyzn. W drugim badaniu, przeprowadzanym w ramach pierwszego badania klinicznego, oceniano precyzję testu Aptima CT, gdy jest on wykonywany zgodnie z wytycznymi NCCLS (17). W drugim badaniu klinicznym określono czułość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima CT przy użyciu roztworu PreservCyt (składnik systemu ThinPrep 2000). Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt zostały również ocenione pod kątem precyzji wewnątrzlaboratoryjnej przy użyciu testu Aptima CT.

Wartości oczekiwane w systemie DTS**Częstość występowania**

Częstość występowania CT w populacjach pacjentów zależy od czynników ryzyka, takich jak wiek, płeć, obecność objawów, rodzaj ośrodka i metoda badania. Podsumowanie częstości występowania CT, według typu próbki określonego testem Aptima CT, zostało przedstawione w Tabeli 1a i 1b dla dwóch wieloośrodkowych badań klinicznych w podziale na ośrodki kliniczne i całościowo.

Tabela 1a: Częstość występowania C. trachomatis w poszczególnych ośrodkach klinicznych i całościowo, określona na podstawie wyników testu Aptima CT

Ośrodek	% (l. dodatnich / l. badanych)											
	MS		MU		FS		FU		PVS		CVS	
1	27,0	(68/252)	25,0	(63/252)	16,5	(38/230)	17,0	(39/229)	19,2	(42/219)	19,1	(44/230)
2	27,7	(98/354)	26,6	(94/354)	35,0	(70/200)	26,5	(53/200)	30,8	(61/198)	33,0	(66/200)
3	25,0	(1/4)	25,0	(1/4)	11,4	(13/114)	8,8	(10/113)	10,8	(12/111)	11,5	(13/113)
4	N/D	N/D	N/D	N/D	11,6	(31/267)	8,1	(22/271)	9,3	(25/268)	12,2	(33/270)
5	8,0	(16/200)	8,0	(16/200)	9,0	(18/199)	7,5	(15/199)	8,0	(16/199)	10,1	(20/199)
6	22,7	(69/304)	20,0	(61/305)	14,3	(42/294)	13,2	(39/295)	15,2	(44/290)	16,2	(48/296)
7	5,8	(12/207)	6,3	(13/207)	7,8	(8/102)	9,8	(10/102)	12,7	(13/102)	8,8	(9/102)
8	N/D	N/D	N/D	N/D	8,2	(4/49)	6,1	(3/49)	12,5	(6/48)	7,8	(4/51)
Wszystkie	20,0	(264/1321)	18,8	(248/1322)	15,4	(224/1455)	13,1	(191/1458)	15,3	(219/1435)	16,2	(237/1461)

MS = Wymaz z męskiej cewki moczowej; **MU** = Mocz mężczyzny; **FS** = Wymaz z kanału szyjki macicy; **FU** = Mocz kobiety; **PVS** = Wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę; **CVS** = Wymaz z pochwy pobrany przez lekarza.

Tabela 1b: Częstość występowania C. trachomatis w poszczególnych ośrodkach klinicznych i całościowo, określona na podstawie wyników testu Aptima CT przy użyciu płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Ośrodek	% (l. dodatnich / l. badanych)	
1	17,0	(17/100)
2	3,2	(4/124)
3	7,4	(35/475)
4	4,2	(12/287)
5	5,4	(16/297)
6	5,5	(20/364)
Wszystkie	6,3	(104/1647)

Dodatnie i ujemne wartości predykcyjne dla hipotetycznych wskaźników częstości występowania w Ameryce Północnej

Szacowane dodatnie i ujemne wartości predykcyjne (PPV i NPV) dla różnych hipotetycznych wskaźników częstości występowania przy użyciu testu Aptima CT przedstawiono w Tabeli 2. Obliczenia te oparte są na hipotetycznych wskaźnikach częstości występowania oraz ogólnej czułości i swoistości oszacowanych na podstawie stanu zakażenia pacjenta w trzech wieloośrodkowych badaniach klinicznych. Ogólna czułość i swoistość dla CT wynosiła

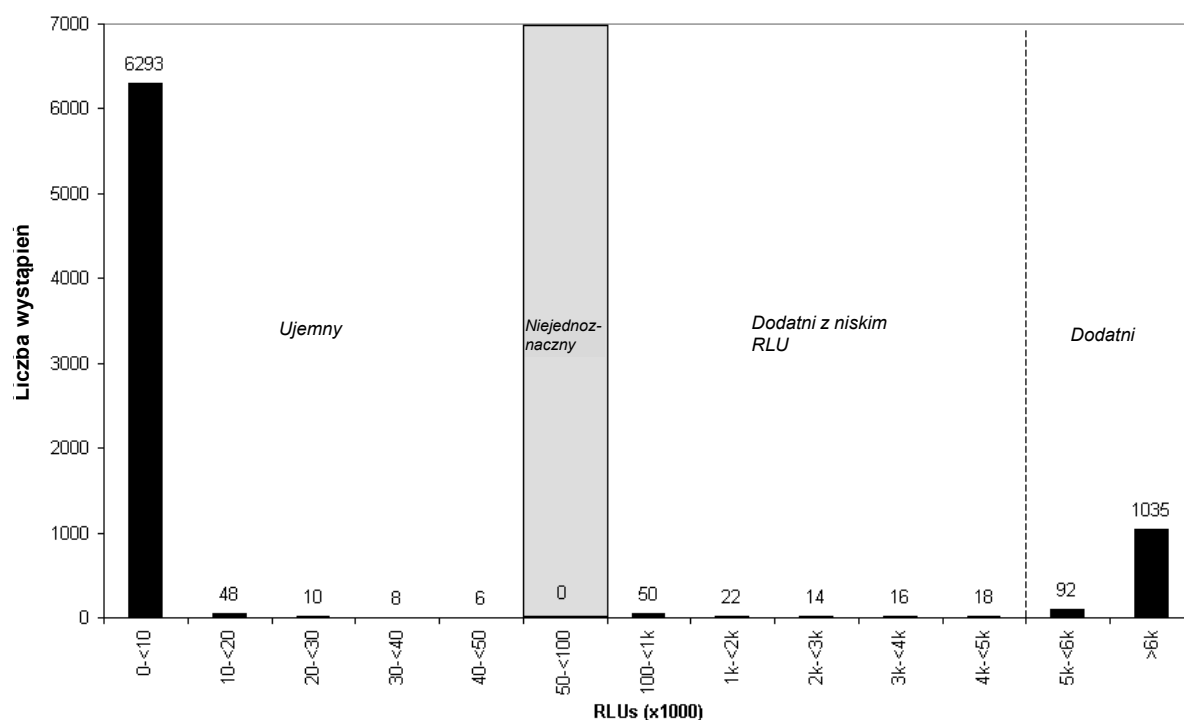
odpowiednio 96,7% i 96,8% (Tabela 2). Rzeczywiste PPV i NPV dla pobranych przez lekarzy wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej, wymazów z pochwy pobranych przez pacjentki oraz próbek moczu mężczyzn i kobiet zostały przedstawione w Tabeli 6 dla każdego ośrodka klinicznego i całościowo. Rzeczywiste wartości PPV i NPV dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt zostały przedstawione w Tabeli 6a.

Tabela 2: Dodatnie i ujemne wartości predykcyjne dla hipotetycznych wskaźników częstości występowania

Hipotetyczna częstość występowania (%)	Czułość (%)	Swoistość (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	96,7	96,8	23,5	100,0
2	96,7	96,8	38,3	99,9
5	96,7	96,8	61,6	99,8
10	96,7	96,8	77,2	99,6
15	96,7	96,8	84,3	99,4
20	96,7	96,8	88,4	99,2
25	96,7	96,8	91,0	98,9
30	96,7	96,8	92,9	98,6

Rozkład RLU dla testu Aptima CT

Rysunek 4 przedstawia rozkład RLU dla testu Aptima CT dla wszystkich typów próbek w badaniu klinicznym, z wyjątkiem płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. Tabela 3 podsumowuje rozkład RLU dla całkowitych wyników dodatnich i całkowitych wyników ujemnych, jak również wyników fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych dla każdego typu próbki, z wyjątkiem płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt, w zależności od stanu zakażenia pacjenta. W przypadku niektórych rodzajów próbek istnieje tendencja do zwiększania się odsetka wyników prawdziwie dodatnich wraz ze wzrostem wartości RLU.



Rysunek 4. Częstość rozkładu RLU dla testu Aptima CT

Tabela 3: Rozkład RLU dla testu Aptima CT

	RLU (x 1000)												
	0 < 10	10 < 20	20 < 30	30 < 40	40 < 50	50 < 100	100 < 1000	1000 < 2000	2000 < 3000	3000 < 4000	4000 < 5000	5000 < 6000	> 6000
Ogółem Dodatnie						0	50	22	14	16	18	92	1035
Ogółem fałszywie dodatnie						0	43	17	7	11	10	25	126
CVS						0	18	4	1	4	4	6	28
PVS						0	7	5	2	1	2	2	6
FS						0	9	2	3	2	2	5	26
MS						0	3	4	0	1	0	3	32
FU						0	5	2	0	1	0	6	12
MU						0	1	0	1	2	2	3	22
Ogółem ujemne	6293	48	10	8	6	0							
Ogółem fałszywie ujemne	31	1	0	1	0	0							
CVS	4	0	0	1	0	0							
PVS	1	0	0	0	0	0							
FS	3	0	0	0	0	0							
MS	4	1	0	0	0	0							
FU	10	0	0	0	0	0							
MU	9	0	0	0	0	0							

CVS = Wymaz z pochwy pobrany przez lekarza; PVS = Wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę bezobjawową;
 FS = Wymaz z kanału szyjki macicy; MS = Wymaz z męskiej cewki moczowej; FU = Mocz kobiety; MU = Mocz mężczyzny.
 Zacięniowana kolumna oznacza strefę niejednoznaczną.

Skuteczność kliniczna systemu DTS

Patrz *Zgodność próbek klinicznych systemu Tigris DTS* po sekcji *Skuteczność analityczna systemu DTS*, aby uzyskać informacje o specyficznej dla systemu Tigris DTS skuteczności klinicznej.

Kliniczne badanie próbek – wymaz z kanału szyjki macicy, wymaz z męskiej cewki moczowej, wymaz z pochwy i próbki moczu

Pobrane przez lekarzy wymazy z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej, wymazy z pochwy pobrane przez pacjentki oraz próbki moczu mężczyzn i kobiet zostały pobrane od 2787 objawowych i bezobjawowych mężczyzn i kobiet, korzystających z usług klinik OB/GYN, chorób przenoszonych drogą płciową (STD), nastolatków i planowania rodziny w ośmiu geograficznie zróżnicowanych ośrodkach klinicznych w Ameryce Północnej. Uczestnicy badania zostali zakwalifikowani do grupy objawowej, jeśli zgłaszali objawy takie jak upławy, dyzuria i ból w miednicy małej. Uczestników zakwalifikowano jako bezobjawowych, jeśli nie zgłaszali objawów. Spośród 1392 bezobjawowych uczestników badania, 2 miało mniej niż 16 lat, 237 było w wieku od 16 do 20 lat, 423 było w wieku od 21 do 25 lat, a 730 było w wieku powyżej 25 lat. Spośród 1395 objawowych uczestników badania 211 było w wieku od 16 do 20 lat, 494 w wieku od 21 do 25 lat, a 690 w wieku powyżej 25 lat.

Trzy próbki pobrano od każdego z 1322 kwalifikujących się do badania mężczyzn. Pobrano pięć próbek od każdej z 1465 kwalifikujących się kobiet. U mężczyzn pobierano dwa losowe wymazy z cewki moczowej, a następnie jedną próbkę moczu. U kobiet pobrano jedną próbkę moczu, a następnie jeden wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę, jeden wymaz z pochwy pobrany przez lekarza i losowo dwa wymazy z kanału szyjki macicy. Z dwóch wymazów z pochwy, jednego wymazu z kanału szyjki macicy, jednego wymazu z męskiej cewki moczowej oraz próbki moczu mężczyzny i kobiety uzyskano wyniki testów Aptima CT i Aptima CT Combo 2. Pozostałe wymazy z kanału szyjki macicy, wymazy z męskiej cewki moczowej oraz próbki moczu mężczyzny i kobiety zostały zbadane przy użyciu innego komercyjnie dostępnego NAAT. Próbki wymazu z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej oraz próbki moczu mężczyzn i kobiet badane testem Aptima Combo 2 oraz innymi komercyjnie dostępnymi NAAT były używane jako referencyjne NAAT w celu określenia stanu zakażenia dla każdego uczestnika. Badanie próbek przeprowadzono albo w miejscu rejestracji uczestników, albo w zewnętrznym ośrodku badawczym.

Wszystkie obliczenia skuteczności opierały się na całkowitej liczbie wyników testów Aptima CT dla wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej oraz próbek moczu mężczyzn i kobiet w porównaniu z algorytmem stanu zakażenia pacjenta dla każdej płci. W algorytmie, określenie osoby jako zakażonej lub niezakażonej CT było oparte na wynikach badania wymazu z kanału szyjki macicy i moczu przy użyciu komercyjnie dostępnego testu Aptima Combo 2 oraz innego komercyjnie dostępnego NAAT. Uczestników uznano za zakażonych CT, jeśli dwie z czterech próbek wymazu z kanału szyjki macicy i moczu dały wynik dodatni w teście Aptima Combo 2 i innym referencyjnym teście NAAT (po jednej próbce dodatniej w każdym NAAT). Uczestników uznano za niezakażonych, jeśli mniej niż dwa referencyjne wyniki NAAT były dodatnie.

Do obliczenia czułości i swoistości wykorzystano łącznie 8406 wyników testu Aptima CT. Czułość i swoistość dla CT w zależności od płci, typu próbki i stanu objawów przedstawiono w Tabeli 4. Tabela 6 przedstawia czułość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima CT w porównaniu ze stanem zakażenia pacjenta dla każdej lokalizacji klinicznej i całościowo. Tabele 7a-7d podsumowują liczbę wyników uzyskanych od osób objawowych i bezobjawowych, zakwalifikowanych jako zakażone lub niezakażone CT zgodnie z algorytmem stanu zakażenia pacjenta.

Spośród 2 787 uczestników badania 13 osób miało nieznaną stan zakażenia CT. Uczestników oznaczono jako pacjentów o nieznanym stanie zakażenia, jeśli brakowało wyników, co uniemożliwiało jednoznaczne określenie stanu zakażenia. Wyniki tych osób nie zostały uwzględnione w żadnych obliczeniach dotyczących skuteczności. Wśród 8452 wyników testu Aptima CT z wielośrodkowego badania klinicznego, niewielki był odsetek (8, 0,09%) próbek, dla których testy początkowo dały nieważny wynik testu CT. Podczas powtórnego badania nie stwierdzono wyników niejednoznacznych ani nieważnych.

Tabela 4: Czulość i swoistość testu Aptima CT w odniesieniu do stanu zakażenia pacjenta według stanu objawów i całościowo

Próbka	Stan objawów	N	TP	FP	TN	FN	Czulość (95% C.I.)		Swoistość (95% C.I.)		
Mężczyzna	Wymaz	Z objawami	576	131	23 ^a	418	4	97,0	(92,6 - 99,2)	94,8	(92,3 - 96,7)
		Bez objawów	745	90	20 ^b	634	1	98,9	(94,0 - 100)	96,9	(95,3 - 98,1)
		Wszystkie	1321	221	43 ^c	1052	5	97,8	(94,9 - 99,3)	96,1	(94,7 - 97,1)
Mężczyzna	Mocz	Z objawami	576	127	14 ^d	427	8	94,1	(88,7 - 97,4)	96,8	(94,7 - 98,3)
		Bez objawów	746	90	17 ^e	638	1	98,9	(94,0 - 100)	97,4	(95,9 - 98,5)
		Wszystkie	1322	217	31 ^f	1065	9	96,0	(92,6 - 98,2)	97,2	(96,0 - 98,1)
Kobieta	Wymaz	Z objawami	807	114	28 ^g	664	1	99,1	(95,3 - 100)	96,0	(94,2 - 97,3)
		Bez objawów	636	59	22 ^h	553	2	96,7	(88,7 - 99,6)	96,2	(94,3 - 97,6)
		Wszystkie	1443	173	50 ⁱ	1217	3	98,3	(95,1 - 99,6)	96,1	(94,8 - 97,1)
Kobieta	Mocz	Z objawami	809	107	13 ^j	682	7	93,9	(87,8 - 97,5)	98,1	(96,8 - 99,0)
		Bez objawów	639	58	13 ^k	565	3	95,1	(86,3 - 99,0)	97,8	(96,2 - 98,8)
		Wszystkie	1448	165	26 ^l	1247	10	94,3	(89,7 - 97,2)	98,0	(97,0 - 98,7)
Pobrano przez pacjentkę	Wymaz z pochwy	Bez objawów	629	60	25 ^m	543	1	98,4	(91,2 - 100)	95,6	(93,6 - 97,1)
Pobrano przez pacjentkę	Wymaz z pochwy	Z objawami	811	111	33 ⁿ	663	4	96,5	(91,3 - 99,0)	95,3	(93,4 - 96,7)
		Bez objawów	638	60	32 ^o	545	1	98,4	(91,2 - 99,0)	94,5	(92,3 - 96,2)
		Wszystkie	1449	171	65 ^p	1208	5	97,2	(93,5 - 99,1)	94,9	(93,5 - 96,0)

TP = Prawdziwie dodatni; FP = Falszywie dodatni; TN = Prawdziwie ujemny; FN = Falszywie ujemny.

Wyniki testu CT Aptima Combo 2: L. wyników dodatnich / I. zbadanych próbek a: 9/23; b: 14/20; c: 23/43; d: 6/14; e: 6/17; f: 12/31; g: 14/28; h: 11/22; i: 25/50; j: 7/13; k: 5/13; l: 12/26; m: 15/25; n: 17/33; o: 15/32; p: 32/65.

Badanie próbek klinicznych – płynna próbka Pap w roztworze PreservCyt

Przeprowadzono prospektywne, wielośrodkowe badanie kliniczne w celu oceny zastosowania roztworu PreservCyt (składnik systemu ThinPrep 2000) jako alternatywnego podłoża dla próbek ginekologicznych do wykrywania CT testem Aptima CT. W badaniu klinicznym oceniono tysiąc sześćset czterdzieści siedem (1647) objawowych i bezobjawowych kobiet, uczęszczających do klinik OB/GYN, planowania rodziny, zdrowia publicznego, kobiecych i STD. Spośród 1647 osób, które można było poddać badaniu, 1288 było bezobjawowych, a 359 było objawowych. Uczestników badania rekrutowano z ośrodków, w których częstość występowania CT wahała się od 2,8% do 14,0%.

Od każdej kwalifikującej się uczestniczki pobrano dwie próbki: jedną płynną próbkę Pap w roztworze PreservCyt i jedną próbkę wymazu z kanału szyjki macicy. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt zostały pobrane za pomocą szpatułki / szczoteczki Cyto-brush lub szczoteczki przypominającej miotłkę do pobierania próbek z kanału szyjki macicy. Dystrybucja urządzeń do pobierania próbek z kanału szyjki macicy jest podsumowana w Tabeli 5 w podziale na miejsce pobrania próbki i całościowo.

Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt zostały przetworzone zgodnie z instrukcją obsługi aparatu ThinPrep 2000 oraz ulotką dołączoną do zestawu do przenoszenia próbek Aptima. Po przetworzeniu płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt za pomocą urządzenia ThinPrep 2000, próbka została przeniesiona do zestawu do przenoszenia próbek Aptima w celu wykonania badania testem Aptima CT.

Czułość i swoistość testu Aptima CT dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt została obliczona poprzez porównanie wyników z algorytmem stanu zakażenia pacjenta. Algorytm uwzględniał wyniki testów Aptima Combo 2 i Aptima CT w próbkach wymazów z kanału szyjki macicy. Aby stwierdzić, że pacjent jest zakażony, oba referencyjne testy NAAT musiały mieć wynik dodatni. Aby stwierdzić, że pacjent nie jest zakażony, co najmniej jeden wynik NAAT musiał być ujemny. Tabela 7e podsumowuje częstotliwość wyników badań dla dwóch referencyjnych NAAT.

Tabela 5a przedstawia czułość i swoistość testu Aptima CT w zależności od stanu objawów i całościowo. Ogólna czułość wyniosła 95,6% (86/90). U uczestników objawowych i bezobjawowych czułość wynosiła odpowiednio 96,7% (29/30) i 95,0% (57/60). Ogólna swoistość wyniosła 98,8% (1539/1557). U uczestników objawowych i bezobjawowych swoistość wynosiła odpowiednio 98,8% (325/329) i 98,9% (1214/1228).

Tabela 6a przedstawia czułość i swoistość testu Aptima CT w zależności od miejsca pobrania próbki i całościowo. Czułość wahała się od 92,9% do 100%. Swoistości wahały się od 96,5% do 100%.

Tabela 5: Rozkład urządzenia do pobierania próbek z kanału szyjki macicy używanego do pobierania płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Zastosowane urządzenie do pobierania próbek z kanału szyjki macicy	Ośrodek pobierania próbek klinicznych						Ogółem
	1	2	3	4	5	6	
Szpatułka / szczoteczka Cyto-brush	0	124	475	287	57	364	1307
Urządzenie typu miotłka	100	0	0	0	240	0	340

Tabela 5a: Czulość i swoistość testu Aptima CT w odniesieniu do stanu zakażenia pacjenta według stanu objawów i całościowo dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Próbka	Wynik testu Aptima CT z roztworem PreservCyt	Wynik testu Aptima Combo 2				Czulość (%) (95% CI)	Swoistość (%) (95% CI)
		+/+	+/-	-/+	-/-		
Z objawami	Dodatni	29	0	1	3	96,7 (29/30) (82,8 – 99,9)	98,8 (325/329) (96,9 – 99,7)
	Ujemny	1	3	3	319		
	Ogółem	30	3	4	322		
Bez objawów	Dodatni	57	0	1	13	95,0 (57/60) (86,1 – 99,0)	98,9 (1214/1228) (98,1 – 99,4)
	Ujemny	3	2	11	1201		
	Ogółem	60	2	12	1214		
Wszystkie	Dodatni	86	0	2	16	95,6 (86/90) (89,0 – 98,8)	98,8 (1539/1557) (98,2 – 99,3)
	Ujemny	4	5	14	1520		
	Ogółem	90	5	16	1536		

+/+ = Dodatni wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Dodatni wynik testu Aptima CT na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

+/- = Dodatni wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Ujemny wynik testu Aptima CT na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

-/+ = Ujemny wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Dodatni wynik testu Aptima CT na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

-/- = Ujemny wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Ujemny wynik testu Aptima CT na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

Tabela 6: Czulość, swoistość i wartość predykcyjna testu Aptima CT w odniesieniu do stanu zakażenia pacjenta według ośrodka klinicznego i całościowo

Próbka	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Cz. wyst. (%)	Czulość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)
Wymaz	1	252	54	14	183	1	21,8	98,2 (90,3 - 100)	92,9 (88,4 - 96,1)	79,4	99,5
	2	354	83	15	252	4	24,6	95,4 (88,6 - 98,7)	94,4 (90,9 - 96,8)	84,7	98,4
	3	4	1	0	3	0	25,0	100 (2,5 - 100)	100 (29,2 - 100)	100	100
	4	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	5	200	12	4	184	0	6,0	100 (73,5 - 100)	97,9 (94,6 - 99,4)	75,0	100
	6	304	59	10	235	0	19,4	100 (93,9 - 100)	95,9 (92,6 - 98,0)	85,5	100
	7	207	12	0	195	0	5,8	100 (73,5 - 100)	100 (98,1 - 100)	100	100
	8	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	Wszystkie	1321	221	43	1052	5	17,1	97,8 (94,9 - 99,3)	96,1 (94,7 - 97,1)	83,7	99,4
Mężczyzna	1	252	54	9	188	1	21,8	98,2 (90,3 - 100)	95,4 (91,5 - 97,9)	85,7	99,5
	2	354	85	9	258	2	24,6	97,7 (91,9 - 99,7)	96,6 (93,7 - 98,4)	90,4	99,2
	3	4	1	0	3	0	25,0	100 (2,5 - 100)	100 (29,2 - 100)	100	100
	4	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	5	200	12	4	184	0	6,0	100 (73,5 - 100)	97,9 (94,6 - 99,4)	75,0	100
	6	305	53	8	238	6	19,3	89,8 (79,2 - 96,2)	96,7 (93,7 - 98,6)	86,9	97,5
	7	207	12	1	194	0	5,8	100 (73,5 - 100)	99,5 (97,2 - 100)	92,3	100
	8	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	Wszystkie	1322	217	31	1065	9	17,1	96,0 (92,6 - 98,2)	97,2 (96,0 - 98,1)	87,5	99,2
Wymaz	1	228	36	2	190	0	15,8	100 (90,3 - 100)	99,0 (96,3 - 99,9)	94,7	100
	2	198	52	18	128	0	26,3	100 (93,2 - 100)	87,7 (81,2 - 92,5)	74,3	100
	3	114	9	4	101	0	7,9	100 (66,4 - 100)	96,2 (90,5 - 99,0)	69,2	100
	4	260	19	11	229	1	7,7	95,0 (75,1 - 99,9)	95,4 (91,9 - 97,7)	63,3	99,6
	5	199	13	5	181	0	6,5	100 (75,3 - 100)	97,3 (93,8 - 99,1)	72,2	100
	6	294	33	9	252	0	11,2	100 (89,4 - 100)	96,6 (93,6 - 98,4)	78,6	100
	7	102	8	0	92	2	9,8	80,0 (44,4 - 97,5)	100 (96,1 - 100)	100	97,9
	8	48	3	1	44	0	6,3	100 (29,2 - 100)	97,8 (88,2 - 99,9)	75,0	100
	Wszystkie	1443	173	50	1217	3	12,2	98,3 (95,1 - 99,6)	96,1 (94,8 - 97,1)	77,6	99,8
Kobieta	1	227	34	5	187	1	15,4	97,1 (85,1 - 99,9)	97,4 (94,0 - 99,1)	87,2	99,5
	2	198	51	2	144	1	26,3	98,1 (89,7 - 100)	98,6 (95,1 - 99,8)	96,2	99,3
	3	113	9	1	103	0	8,0	100 (66,4 - 100)	99,0 (94,8 - 100)	90,0	100
	4	265	18	4	241	2	7,5	90,0 (68,3 - 98,8)	98,4 (95,9 - 99,6)	81,8	99,2
	5	199	11	4	182	2	6,5	84,6 (54,6 - 98,1)	97,8 (94,6 - 99,4)	73,3	98,9
	6	295	29	10	252	4	11,2	87,9 (71,8 - 96,6)	96,2 (93,1 - 98,2)	74,4	98,4
	7	102	10	0	92	0	9,8	100 (69,2 - 100)	100 (96,1 - 100)	100	100
	8	49	3	0	46	0	6,1	100 (29,2 - 100)	100 (92,3 - 100)	100	100
	Wszystkie	1448	165	26	1247	10	12,1	94,3 (89,7 - 97,2)	98,0 (97,0 - 98,7)	86,4	99,2
Mocz	1	227	34	5	187	1	15,4	97,1 (85,1 - 99,9)	97,4 (94,0 - 99,1)	87,2	99,5
	2	198	51	2	144	1	26,3	98,1 (89,7 - 100)	98,6 (95,1 - 99,8)	96,2	99,3
	3	113	9	1	103	0	8,0	100 (66,4 - 100)	99,0 (94,8 - 100)	90,0	100
	4	265	18	4	241	2	7,5	90,0 (68,3 - 98,8)	98,4 (95,9 - 99,6)	81,8	99,2
	5	199	11	4	182	2	6,5	84,6 (54,6 - 98,1)	97,8 (94,6 - 99,4)	73,3	98,9
	6	295	29	10	252	4	11,2	87,9 (71,8 - 96,6)	96,2 (93,1 - 98,2)	74,4	98,4
	7	102	10	0	92	0	9,8	100 (69,2 - 100)	100 (96,1 - 100)	100	100
	8	49	3	0	46	0	6,1	100 (29,2 - 100)	100 (92,3 - 100)	100	100
	Wszystkie	1448	165	26	1247	10	12,1	94,3 (89,7 - 97,2)	98,0 (97,0 - 98,7)	86,4	99,2

Tabela 6: Czulość, swoistość i wartość predykcyjna testu Aptima CT w odniesieniu do stanu zakażenia pacjenta według ośrodka klinicznego i całościowo (ciąg dalszy)

Próbka	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Cz. wyst. (%)	Czulość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)	
Pobrany przez pacjentkę	Wymaz z pochwy	1	70	14	4	52	0	20,0	100 (76,8 - 100)	92,9 (82,7 - 98,0)	77,8	100
		2	46	13	4	29	0	28,3	100 (75,3 - 100)	87,9 (71,8 - 96,6)	76,5	100
		3	45	4	2	39	0	8,9	100 (39,8 - 100)	95,1 (83,5 - 99,4)	66,7	100
		4	152	6	3	142	1	4,6	85,7 (42,1 - 99,6)	97,9 (94,1 - 99,6)	66,7	99,3
		5	130	7	3	120	0	5,4	100 (59,0 - 100)	97,6 (93,0 - 99,5)	70,0	100
		6	75	8	5	62	0	10,7	100 (63,1 - 100)	92,5 (83,4 - 97,5)	61,5	100
		7	68	5	2	61	0	7,4	100 (47,8 - 100)	96,8 (89,0 - 99,6)	71,4	100
		8	43	3	2	38	0	7,0	100 (29,2 - 100)	95,0 (83,1 - 99,4)	60,0	100
		Wszystkie	629	60	25	543	1	9,7	98,4 (91,2 - 100)	95,6 (93,6 - 97,1)	70,6	99,8
Pobrany przez lekarza	Wymaz z pochwy	1	228	36	8	184	0	15,8	100 (90,3 - 100)	95,8 (92,0 - 98,2)	81,8	100
		2	198	50	16	130	2	26,3	96,2 (86,8 - 99,5)	89,0 (82,8 - 93,6)	75,8	98,5
		3	113	9	4	100	0	8,0	100 (66,4 - 100)	96,2 (90,4 - 98,9)	69,2	100
		4	263	18	14	229	2	7,6	90,0 (68,3 - 98,8)	94,2 (90,5 - 96,8)	56,3	99,1
		5	199	13	7	179	0	6,5	100 (75,3 - 100)	96,2 (92,4 - 98,5)	65,0	100
		6	296	33	15	248	0	11,1	100 (89,4 - 100)	94,3 (90,8 - 96,8)	68,8	100
		7	102	9	0	92	1	9,8	90,0 (55,5 - 99,7)	100 (96,1 - 100)	100	98,9
		8	50	3	1	46	0	6,0	100 (29,2 - 100)	97,9 (88,7 - 99,9)	75,0	100
		Wszystkie	1449	171	65	1208	5	12,1	97,2 (93,5 - 99,1)	94,9 (93,5 - 96,0)	72,5	99,6

TP = Prawdziwie dodatni; FP = Falszywie dodatni; TN = Prawdziwie ujemny; FN = Falszywie ujemny.

Tabela 6a: Czulość, swoistość i wartość predykcyjna testu Aptima CT w odniesieniu do stanu zakażenia pacjenta w zależności od ośrodka klinicznego i całościowo dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Ośrodek	Wynik testu Aptima CT z roztworem PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Cz. wyst. (%)	Czulość (%) (95% C.I.)	Swoistość (%) (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)
1	Dodatni	14	0	1	2	14,0	100 (14/14) (76,8 – 100)	96,5 (83/86) (90,1 – 99,3)	82,4	100
	Ujemny	0	0	0	83					
	Ogółem	14	0	1	85					
2	Dodatni	4	0	0	0	3,2	100 (4/4) (39,8 – 100)	100 (120/120) (97,0 – 100)	100	100
	Ujemny	0	0	2	118					
	Ogółem	4	0	2	118					
3	Dodatni	29	0	0	6	6,5	93,5 (29/31) (78,6 – 99,2)	98,6 (438/444) (97,1 – 99,5)	82,9	99,5
	Ujemny	2	0	2	436					
	Ogółem	31	0	2	442					
4	Dodatni	8	0	0	4	2,8	100 (8/8) (63,1 – 100)	98,6 (275/279) (96,4 – 99,6)	66,7	100
	Ujemny	0	3	1	271					
	Ogółem	8	3	1	275					
5	Dodatni	13	0	0	3	4,7	92,9 (13/14) (66,1 – 99,8)	98,9 (280/283) (96,9 – 99,8)	81,3	99,6
	Ujemny	1	1	4	275					
	Ogółem	14	1	4	278					
6	Dodatni	18	0	1	1	5,2	94,7 (18/19) (74,0 – 99,9)	99,4 (343/345) (97,9 – 99,9)	90,0	99,7
	Ujemny	1	1	5	337					
	Ogółem	19	1	6	338					
Wszystkie	Dodatni	86	0	2	16	5,5	95,6 (86/90) (89,0 – 98,8)	98,8 (1539/1557) (98,2 – 99,3)	82,7	99,7
	Ujemny	4	5	14	1520					
	Ogółem	90	5	16	1536					

+/+ = Dodatni wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Dodatni wynik testu Aptima CT na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

+/- = Dodatni wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Ujemny wynik testu Aptima CT na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

-/+ = Ujemny wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Dodatni wynik testu Aptima CT na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

-/- = Ujemny wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Ujemny wynik testu Aptima CT na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

Tabela 7a: Wyniki testów dla wymazu z cewki moczowej i moczu mężczyzn zakażonych lub niezakażonych *C. trachomatis* w zależności od stanu zakażenia pacjenta

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT		Stan objawów		Ogółem
	MS	MU	MS	MU	MS	MU	Objaw.	Bezobj.	
	Zakażony	+	+	+	+	+	+	96	
Zakażony	+	+	+	+	+	-	5	1	6
Zakażony	+	+	+	-	+	+	11	7	18
Zakażony	+	+	-	+	+	+	13	11	24
Zakażony	+	+	-	+	+	-	1	0	1
Zakażony	+	+	-	+	-	+	1	0	1
Zakażony	+	-	+	+	+	+	2	0	2
Zakażony	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Zakażony	+	-	+	-	+	-	1	0	1
Zakażony	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Zakażony	-	+	-	+	+	+	0	2	2
Zakażony	-	+	-	+	-	+	3	1	4
Zakażony	-	+	=	+	+	+	0	1	1
Niezakażony	+	+	-	-	+	+	4	4	8
Niezakażony	+	+	-	-	-	+	1	0	1
Niezakażony	+	-	-	-	+	+	1	4	5
Niezakażony	+	-	-	-	+	-	4	6	10
Niezakażony	+	-	-	-	-	+	1	0	1
Niezakażony	+	-	-	-	-	-	3	0	3
Niezakażony	-	+	-	-	+	+	1	0	1
Niezakażony	-	+	-	-	-	+	0	2	2
Niezakażony	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Niezakażony	-	-	+	+	+	+	1	0	1
Niezakażony	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Niezakażony	-	-	-	-	+	+	1	1	2
Niezakażony	-	-	-	-	+	-	11	5	16
Niezakażony	-	-	-	-	-	+	4	4	8
Niezakażony	-	-	-	-	-	-	403	618	1021
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	+	0	2	2
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	-	1	2	3
Niezakażony	-	-	-	=	-	-	0	4	4
Niezakażony	-	-	=	-	-	-	2	0	2
Niezakażony	N/D	-	-	-	N/D	-	0	1	1
Ogółem							576	746	1322

N/D = Próbkę nie została pobrana lub jest niedostępna do badania. Symbol równości (=) oznacza wynik niejednoznaczny lub nieokreślony w powtórny badaniu.

MS = Wymaz z męskiej cewki moczowej; **MU** = Mocz męczyzny.

Tabela 7b: Wyniki testów dla wymazu z kanału szyjki macicy i moczu kobiet zakażonych lub niezakażonych *C. trachomatis* w zależności od stanu zakażenia pacjenta

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT		Stan objawów		Ogółem
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Objaw.	Bezobj.	
Zakażony	+	+	+	+	+	+	80	43	123
Zakażony	+	+	+	+	+	-	1	1	2
Zakażony	+	+	+	-	+	+	10	5	15
Zakażony	+	+	+	=	+	+	1	0	1
Zakażony	+	+	-	+	+	+	9	3	12
Zakażony	+	-	+	+	+	+	3	1	4
Zakażony	+	-	+	+	+	-	2	2	4
Zakażony	+	-	+	-	+	+	2	0	2
Zakażony	+	-	+	-	+	-	4	0	4
Zakażony	+	-	+	-	+	N/D	1	0	1
Zakażony	-	+	+	+	+	+	0	1	1
Zakażony	-	+	-	+	+	+	1	3	4
Zakażony	-	+	-	+	-	+	1	2	3
Niezakażony	+	+	-	-	+	+	1	2	3
Niezakażony	+	+	-	N/D	+	+	1	0	1
Niezakażony	+	-	-	-	+	+	0	2	2
Niezakażony	+	-	-	-	+	-	12	7	19
Niezakażony	+	-	-	-	-	-	0	1	1
Niezakażony	-	+	-	-	+	+	1	0	1
Niezakażony	-	+	-	-	-	+	4	3	7
Niezakażony	-	+	-	-	-	-	0	1	1
Niezakażony	-	-	+	-	-	-	1	1	2
Niezakażony	-	-	-	+	-	-	1	2	3
Niezakażony	-	-	-	-	+	+	0	2	2
Niezakażony	-	-	-	-	+	-	11	9	20
Niezakażony	-	-	-	-	-	+	5	4	9
Niezakażony	-	-	-	-	-	-	636	526	1162
Niezakażony	-	-	-	-	-	N/D	1	0	1
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	-	2	3	5
Niezakażony	-	-	-	=	-	-	12	10	22
Niezakażony	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Niezakażony	-	N/D	-	-	-	N/D	1	1	2
Niezakażony	N/D	-	-	-	N/D	-	5	4	9
Niezakażony	=	-	-	-	+	+	1	0	1
Niezakażony	=	-	-	-	+	-	1	0	1
Ogółem							812	640	1452

N/D = Próbkę nie została pobrana lub jest niedostępna do badania. Symbol równości (=) oznacza wynik niejednoznaczny lub nieokreślony w powtórnym badaniu.

FS = Wymaz z kanału szyjki macicy; **FU** = Mocz kobiety. **Objaw.** = Z objawami; **Bezobj.** = Bez objawów.

Tabela 7c: Wyniki testów dla wymazu z pochwy pobranego przez pacjentkę bezobjawową od osób zakażonych lub niezakażonych *C. trachomatis* w zależności od stanu zakażenia pacjentki

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT	Ogółem
	FS	FU	FS	FU	PVS	
Zakażony	+	+	+	+	+	44
Zakażony	+	+	+	-	+	5
Zakażony	+	+	-	+	+	3
Zakażony	+	-	+	+	+	3
Zakażony	-	+	+	+	+	1
Zakażony	-	+	-	+	+	4
Zakażony	-	+	-	+	-	1
Niezakażony	+	+	-	-	+	2
Niezakażony	+	-	-	-	+	4
Niezakażony	+	-	-	-	+	1
Niezakażony	+	-	-	-	-	2
Niezakażony	+	-	-	-	-	3
Niezakażony	-	+	-	-	+	2
Niezakażony	-	+	-	-	-	2
Niezakażony	-	-	+	-	-	1
Niezakażony	-	-	-	+	-	2
Niezakażony	-	-	-	-	+	5
Niezakażony	-	-	-	-	+	10
Niezakażony	-	-	-	-	-	15
Niezakażony	-	-	-	-	-	500
Niezakażony	-	-	-	-	-	1
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	1
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	9
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	2
Niezakażony	-	-	-	N/D	N/D	1
Niezakażony	-	-	-	=	-	1
Niezakażony	-	-	-	=	-	8
Niezakażony	-	-	-	=	-	1
Niezakażony	-	-	=	-	-	1
Niezakażony	-	N/D	-	-	-	1
Niezakażony	N/D	-	-	-	+	1
Niezakażony	N/D	-	-	-	-	3
Ogółem						640

N/D = Próbkę nie została pobrana lub jest niedostępna do badania. Symbol równości (=) oznacza wynik niejednoznaczny lub nieokreślony w powtórny badaniu.

FS = Wymaz z kanału szyjki macicy; **FU** = Mocz kobiety; **CVS** = Wymaz z pochwy pobrany przez lekarza; **PVS** = Wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę bezobjawową.

Tabela 7d: Wyniki testów dla wymazu z pochwy pobranego przez lekarza od osób zakażonych lub niezakażonych *C. trachomatis* w zależności od stanu zakażenia pacjentki

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT	Stan objawów		Ogółem
	FS	FU	FS	FU	CVS	Objaw.	Bezobj.	
Zakażony	+	+	+	+	+	76	44	120
Zakażony	+	+	+	+	-	2	0	2
Zakażony	+	+	+	+	+	2	0	2
Zakażony	+	+	+	+	+	1	0	1
Zakażony	+	+	+	-	+	8	5	13
Zakażony	+	+	+	-	-	1	0	1
Zakażony	+	+	+	-	+	1	0	1
Zakażony	+	+	+	=	+	1	0	1
Zakażony	+	+	-	+	+	9	3	12
Zakażony	+	-	+	+	+	5	3	8
Zakażony	+	-	+	-	+	7	0	7
Zakażony	-	+	+	+	+	0	1	1
Zakażony	-	+	-	+	+	1	4	5
Zakażony	-	+	-	+	-	1	0	1
Zakażony	-	+	-	+	-	0	1	1
Niezakażony	+	+	-	-	+	1	2	3
Niezakażony	+	+	-	N/D	+	1	0	1
Niezakażony	+	-	-	-	+	3	4	7
Niezakażony	+	-	-	-	-	0	1	1
Niezakażony	+	-	-	-	+	2	2	4
Niezakażony	+	-	-	-	-	5	3	8
Niezakażony	+	-	-	-	+	1	0	1
Niezakażony	+	-	-	-	-	1	0	1
Niezakażony	-	+	-	-	+	5	2	7
Niezakażony	-	+	-	-	-	0	2	2
Niezakażony	-	-	+	-	-	1	1	2
Niezakażony	-	-	-	+	-	1	2	3
Niezakażony	-	-	-	-	+	4	5	9
Niezakażony	-	-	-	-	-	6	10	16
Niezakażony	-	-	-	-	+	16	15	31
Niezakażony	-	-	-	-	-	614	500	1114
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	0	1	1
Niezakażony	-	-	-	-	+	0	1	1
Niezakażony	-	-	-	-	-	13	9	22
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	2	2	4
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	0	1	1
Niezakażony	-	-	-	=	+	0	1	1
Niezakażony	-	-	-	=	-	12	8	20
Niezakażony	-	-	-	=	N/D	0	1	1
Niezakażony	-	-	=	-	-	1	1	2
Niezakażony	-	N/D	-	-	-	0	1	1

Tabela 7d: Wyniki testów dla wymazu z pochwy pobranego przez lekarza od osób zakażonych lub niezakażonych *C. trachomatis* w zależności od stanu zakażenia pacjentki (ciąg dalszy)

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT	Stan objawów		Ogółem
	FS	FU	FS	FU	CVS	Objaw.	Bezobj.	
Niezakażony	-	N/D	-	-	N/D	1	0	1
Niezakażony	N/D	-	-	-	-	0	1	1
Niezakażony	N/D	-	-	-	-	5	3	8
Niezakażony	=	-	-	-	-	2	0	2
Ogółem						812	640	1452

N/D = Próbkę nie została pobrana lub jest niedostępna do badania. Symbol równości (=) oznacza wynik niejednoznaczny lub nieokreślony w powtórnym badaniu.

FS = Wymaz z kanału szyjki macicy; **FU** = Mocz kobiety; **CVS** = Wymaz z pochwy pobrany przez lekarza. **Objaw.** = Z objawami; **Bezobj.** = Bez objawów.

Tabela 7e: Wyniki testów na obecność *C. trachomatis* dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt w badaniu klinicznym pacjentów o stanie zakażonym

Stan zakażenia pacjenta	Wymaz z kanału szyjki macicy		Stan objawów	
	Test Aptima Combo 2	Test Aptima CT	Z objawami	Bez objawów
Zakażony	Dodatni	Dodatni	30	60
Niezakażony	Ujemny	Ujemny	322	1214
Niezakażony	Ujemny	Dodatni	4	12
Niezakażony	Dodatni	Ujemny	3	2
Ogółem			359	1288

Rozkład RLU dla kontroli Aptima

Rozkład RLU dla kontroli dodatniej Aptima, GC / kontroli ujemnej, CT i kontroli dodatniej Aptima, CT / kontroli ujemnej, GC ze wszystkich serii testu Aptima CT wykonanych podczas badań klinicznych próbek został przedstawiony w Tabeli 8.

Tabela 8: Rozkład RLU kontroli Aptima podczas badań klinicznych próbek, w tym wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej, próbek moczu mężczyzn i kobiet oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Kontrola	Statystyka	RLU (x1000)	
		Badanie kliniczne wymazów i próbek moczu	Badanie kliniczne płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt
Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT	N	198	209
	Średnia	0,89	1,22
	SD	2,94	2,63
	Wartość maksymalna	26	36
	75. percentyl	1	1
	Mediana	0	1
	25. percentyl	0	1
	Wartość minimalna	0	0
Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC	N	198	209
	Średnia	7007	6593
	SD	776	709
	Wartość maksymalna	8884	10383
	75. percentyl	7440	7025
	Mediana	7066	6661
	25. percentyl	6621	6205
	Wartość minimalna	988	4419

Badanie precyzji

Precyzja (tj. odtwarzalność) testu Aptima CT została oceniona w dwóch zewnętrznych ośrodkach klinicznych oraz w firmie Hologic. Precyzja testu Aptima CT została oceniona dla trzech partii zestawów Aptima CT, trzech ośrodków badawczych, sześciu operatorów i 108 serii testu Aptima CT. Dwóch operatorów w każdym z trzech ośrodków badawczych przeprowadziło łącznie sześć testów Aptima CT na partię zestawu, co daje łącznie 36 testów na partię zestawu. Każda seria składała się z 12-elementowego panelu precyzji zawierającego od 0 do 2000 fg/test na rRNA CT. Odtwarzalność została ustalona przy użyciu podłoża transportowego do wymazów z rRNA. Odtwarzalność podczas badania próbek wymazu i moczu zawierających mikroorganizm szukany nie została określona. Tabela 9 przedstawia dane RLU dot. precyzji w kategoriach Średniej, Odchylenia standardowego, Współczynnika zmienności (CV) i procentowej zgodności z oczekiwanymi wynikami dla obliczeń zmienności pomiędzy ośrodkami, pomiędzy partiami, pomiędzy operatorami, pomiędzy seriami i wewnątrz serii.

Tabela 9: Dane dotyczące precyzji testu Aptima CT przy użyciu 12-elementowego panelu precyzji zawierającego od 0 do 2000 fg/test na rRNA CT

Stężenie	N	Średnie RLU (x1000)	% zgodność	Wewnątrz serii		Pomiędzy ośrodkami		Pomiędzy partiami		Pomiędzy operatorami		Pomiędzy seriami	
				SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)
Ujem. (0 fg/mL)	540	0,7	100	0,7	N/D	0,5	N/D	0,3	N/D	0,4	N/D	0	N/D
Niskie (12 fg/mL)	216	7143,4	100	200,3	2,8	335,6	4,7	207,7	2,9	537,3	7,5	558,8	7,8
Średnie (250 fg/mL)	108	7084,9	100	162,2	2,3	275,1	3,9	159,5	2,3	546,3	7,7	578,2	8,2
Średnie (2 500 fg/mL)	108	6991,1	100	150,7	2,2	279,4	4,0	117,8	1,7	532,3	7,6	534,9	7,7
Wysokie (5 000 – 5 135 fg/mL)	324	7133,4	100	229,2	3,2	301,0	4,2	129,0	1,8	531,7	7,5	618,3	8,7

SD = Odchylenie standardowe; **CV(%)** = Procentowy współczynnik zmienności; **% zgodność**. = Procentowa zgodność.

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W takim przypadku zmienność mierzona za pomocą SD i %CV zostaje ustalona na zero (17). **N/D** = nie dotyczy analitu ujemnego.

Wewnątrzlaboratoryjną precyzję próbki w roztworze PreservCyt dla testu Aptima CT określono poprzez wzbogacenie fiolek z roztworem PreservCyt o 20 IFU CT na fiolkę (0,1 IFU na reakcję) oraz 100 IFU CT na fiolkę (0,5 IFU na reakcję). Fiolki zawierające 1000 IFU CT na fiolkę (5 IFU na reakcję) oraz fiołki bez dodatku roztworu PreservCyt były badane jako kontrola dodatnia i ujemna. Dziesięć fiolek z domieszką na każdym poziomie IFU i dziesięć fiolek bez domieszki rozdzielono między dwóch operatorów. Operatorzy wytrząsali fiołki, a następnie przenieśli 14 porcji (po 1,0 mL każda) z każdej fiołki do 14 próbek transportowych Aptima, zgodnie z ulotką dołączoną do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima. Operatorzy nie mieli wglądu w miana próbek. Każda z otrzymanych próbek Pap-STM została jednokrotnie przebadana w teście Aptima CT. Przeprowadzono w sumie pięć serii w okresie pięciu dni, uzyskując 140 wyników na każdym poziomie IFU. Wyniki zostały podsumowane w Tabeli 10.

Tabela 10: Dane dotyczące precyzji wewnątrzlaboratoryjnej testu Aptima CT z roztworem PreservCyt przy użyciu 4-elementowego panelu precyzji zawierającego od 0 do 1000 IFU/20 mL komórek CT

Element panelu	IFU/20 mL PreservCyt	IFU/rxn	n	Zgodne	% zgodność	Średnie RLU (x1000)	Dla operatora		Pomiędzy dniami		Pomiędzy operatorami		Ogółem	
							SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
A	20	0,1	140	140	100	6501,7	734,8	11,3	0	0,0	546,9	8,4	916	14,1
B	100	0,5	140	138*	98,6	6337,7	1054,7	16,6	0	0,0	947,2	14,9	1417,6	22,4
C	1000	5	140	140	100	6521,9	909	13,9	247,1	3,8	393,9	6	1021	15,7
D	0	0	140	140	100	1,2	0,8	N/D	0	N/D	0,4	N/D	0,9	N/D

* wyniki rozbieżne to jeden wynik ujemny i 1 wynik niejednoznaczny

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W takim przypadku zmienność mierzona za pomocą SD i %CV zostaje ustalona na zero (17). **N/D** = nie dotyczy ujemnego elementu panelu. Operator = Seria. Próbkę z rozbieżnymi wynikami zostały włączone do analizy zmienności sygnału.

Skuteczność analityczna systemu DTS

Patrz *Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS* po sekcji *Zgodność próbek klinicznych systemu Tigris DTS*, aby uzyskać informacje o specyficznej dla systemu Tigris DTS skuteczności analitycznej.

Patrz *Skuteczność analityczna systemu Panther*, aby uzyskać informacje o specyficznej dla Panther System skuteczności analitycznej.

Czułość analityczna

Czułość analityczna (granica wykrywalności) *C. trachomatis* została ustalona poprzez bezpośrednie porównanie wartości rozcieńczania mikroorganizmów CT w hodowli komórkowej oraz w teście Aptima CT. Czułość analityczna oznaczenia wynosi jedną jednostkę tworzącą wtręt (IFU) na test (7,25 IFU/wymaz, 5 IFU/mL moczu i 9,75 IFU/mL płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt) dla wszystkich 15 serotypów CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 i L3). Jednakże rozcieńczenia poniżej jednej IFU/test wszystkich serotypów dały wynik dodatni.

Swoistość analityczna

Łącznie, przy użyciu testu Aptima CT, oceniono 154 izolaty z hodowli. Wśród tych izolatów znalazło się 86 mikroorganizmów, które mogą być izolowane z dróg moczowo-płciowych, oraz 68 dodatkowych, reprezentujących przekrój filogenetyczny mikroorganizmów. Wśród badanych mikroorganizmów znalazły się bakterie, grzyby, drożdże, pasożyty i wirusy. Wszystkie mikroorganizmy z wyjątkiem *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* i wirusów badano w dawce $1,0 \times 10^6$ komórek/test w podłożu KOVA-Trol / podłożu do transportu moczu, a 60 mikroorganizmów badano w podłożu do transportu wymazów. Mikroorganizmy Chlamydia i Neisseria były testowane w podłożu z roztworem PreservCyt. *C. psittaci* VR601 zbadano w dawce $8,0 \times 10^4$ komórek/test, a *C. psittaci* VR125 zbadano w dawce $1,0 \times 10^5$ komórek/test. *C. pneumoniae* zbadano w dawce 4×10^3 komórek/test, a *U. urealyticum* zbadano w dawce $6,7 \times 10^6$ komórek/test. Wirusy badano w następujący sposób: (a) wirus opryszczki pospolitej I: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) wirus opryszczki pospolitej II: $6,0 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (c) wirus brodawczaka ludzkiego 16: $2,9 \times 10^6$ kopii DNA/test oraz (d) wirus cytomegalii: $4,8 \times 10^5$ komórek/test. Wykaz badanych mikroorganizmów znajduje się w Tabeli 11.

Tabela 11: Swoistość analityczna

Mikroorganizm	Mikroorganizm	Mikroorganizm
<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria mucosa</i> (3)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	<i>Neisseria sicca</i> (3)
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria subflava</i> (14)
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria perflava</i>
<i>Actinomyces pyogenes</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Paracoccus denitrificans</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Wirus opryszczki pospolitej I	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Wirus opryszczki pospolitej II	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Wirus brodawczaka ludzkiego 16	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Kingella dentrificans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteriodes ureolyticus</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Bifidobacterium brevi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus jensonii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella pneumophila</i> (2)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Leuconostoc paramensenteroides</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Chlamydia psittaci</i> (2)	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Serogrupa A <i>N. meningitidis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
Cytomegalowirus	Serogrupa B <i>N. meningitidis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	Serogrupa C <i>N. meningitidis</i> (4)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Derxia gummosa</i>	Serogrupa D <i>N. meningitidis</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	Serogrupa Y <i>N. meningitidis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Serogrupa W135 <i>N. meningitidis</i>	<i>Streptomyces griseinus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria cinerea</i> (4)	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria dentrificans</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria elongata</i> (3)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria flava</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Neisseria flavescens</i> (2)	
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Neisseria lactamica</i> (9)	

(n) = liczba badanych szczepów. Wszystkie badane mikroorganizmy dały wynik ujemny w teście Aptima CT.

Substancje zakłócające

Poniższe substancje zakłócające zostały indywidualnie dodane do wymazów, płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt i/lub próbek moczu: 10% krwi, żel antykoncepcyjny, żel plemnikobójczy, środek nawilżający, środek znieczulający na hemoroidy, olejek do ciała, puder, krem przeciwgrzybiczy, lubrykanty dopochwowe, spray dla kobiet i leukocyty (1×10^6 komórek/mL). Poniższe substancje zakłócające zostały indywidualnie dodane do próbek moczu: 30% krwi, anality moczu, białko, glukoza, ketony, bilirubina, azotany, urobilinogen, pH 4 (kwaśne), pH 9 (zasadowe), leukocyty (1×10^6 komórek/mL), szczątki komórek, witaminy, minerały, acetaminofen, aspiryna i ibuprofen. Wszystkie zostały zbadane pod kątem potencjalnego zakłócenia testu przy braku i obecności CT przy szacowanym odpowiedniku rRNA wynoszącym 1 komórkę/test (5 fg/test). Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu. Nie zaobserwowano interferencji z żadną z badanych substancji. W teście Aptima CT nie zaobserwowano inhibitorów amplifikacji.

Odzysk

Do próbek zawierających odpowiednik rRNA w ilości wynoszącej jedną IFU CT (5 fg) dodano *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus* oraz *Staphylococcus epidermidis* (1×10^8 komórek/test). Te domieszki nie zakłócały amplifikacji i wykrywania rRNA CT przy użyciu testu Aptima CT.

Badania stabilności próbek

A. Próbki wymazów

Dane potwierdzające zalecane warunki transportu i przechowywania próbek wymazów z kanału szyjki macicy, cewki moczowej i pochwy zostały wygenerowane na podstawie zbiorczych ujemnych próbek wymazów. Do zbiorczych próbek dodano CT w końcowym stężeniu 1 IFU na reakcję. Próbki z domieszką przechowywano w temperaturze -70°C , -20°C , 4°C i 30°C . Próbki badano w dwóch egzemplarzach w dniach 0, 20, 77 i 117. Wszystkie warunki badania były dodatnie dla CT przez cały czas i w każdej temperaturze.

B. Próbki moczu

Dane potwierdzające zalecane warunki transportu i przechowywania próbek moczu zostały wygenerowane na podstawie wyników 10 ujemnych próbek moczu pobranych od kobiet i 10 ujemnych próbek moczu pobranych od mężczyzn. Do próbek moczu dodano materiał CT w końcowym stężeniu 10 IFU na reakcję. Przed dodaniem do podłoża transportowego dla próbek moczu (UTM) dwa zestawy próbek moczu z dodatkiem materiału bakteryjnego przechowywano w temperaturze 4°C i 30°C . Następnie oba zestawy próbek w podłożu UTM przechowywano w temperaturze 4°C i 30°C i badano w trzech powtórzeniach w dniach 0, 1, 5, 20 i 35. W dniu 35 wszystkie próbki spełniały wstępnie określone kryteria akceptacji.

C. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt

Dane potwierdzające zalecane warunki transportu i przechowywania płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt zostały wygenerowane na podstawie ujemnych przetworzonych i nieprzetworzonych płynnych próbek Pap. W przypadku próbek nieprzetworzonych, po przechowywaniu w fiolce z roztworem PreservCyt, przebadano cztery pule próbek z roztworem PreservCyt. Do każdej puli próbek dodano od 1 do 10 IFU CT/test, przechowywano je w temperaturze 2°C , 10°C i 30°C , a następnie zbadano je w dniu rozpoczęcia oraz w dniach 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 i 36. Wszystkie próbki z domieszką były dodatnie dla CT przez cały czas i w każdej temperaturze.

W przypadku próbek przetworzonych, cztery puli próbek w roztworze PreservCyt użyto do określenia stabilności przetworzonej próbki w temperaturze od 2°C do 30°C. Do każdej puli próbek ujemnych dodano od 1 do 10 IFU CT/test, a następnie zbadano je w dniu rozpoczęcia. Przed przetworzeniem, próbki w roztworze PreservCyt przechowywano w temperaturze 30°C przez siedem (7) dni, aby zasymulować upływ czasu między pobraniem próbki, przetworzeniem Pap i wysłaniem do laboratorium mikrobiologicznego. Po siedmiu dniach w temperaturze 30°C, porcje o objętości 1 mL z każdej puli przeniesiono do probówki do przenoszenia próbek Aptima i zbadano je w dniu rozpoczęcia przed umieszczeniem w temperaturze 2°C, 10°C i 30°C. Przetworzone próbki następnie badano po 17 dniach przechowywania w temperaturze 30°C i 36 dniach przechowywania w temperaturze od 2°C do 10°C. Wszystkie próbki z domieszką były dodatnie dla CT przez cały czas i w każdej temperaturze.

Dane potwierdzające dłuższe warunki przechowywania zostały wygenerowane z czterech puli ujemnych przetworzonych próbek w roztworze PreservCyt, przebadanych w temperaturach poniżej zera. Do każdej puli dodano 1 do 10 IFU CT/test, a następnie zbadano je w dniu rozpoczęcia. Każdą pulę umieszczano najpierw w temperaturze 30°C na 14 dni, a następnie przechowywano w temperaturze -20°C lub -70°C przez 106 dni. Wszystkie próbki z domieszką były dodatnie dla CT przez cały czas i w każdej temperaturze.

D. Dodatkowe badanie stabilności próbki zamrożonej (w temperaturze -20°C)

W przypadku przechowywania w stanie zamrożonym zalecane jest, aby próbki w postaci wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z cewki moczowej, wymazu z pochwy, próbki moczu pobranego od kobiet, próbki moczu pobranego od mężczyzn oraz płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt umieszczone w podłożu transportowym były przechowywane w temperaturze pomiędzy -20°C a -70°C przez maksymalnie 12 miesięcy. Dane potwierdzające te warunki dla poszczególnych rodzajów próbek zostały wygenerowane przy użyciu 90 próbek ujemnych. Do próbek dodawano materiał CT w następujących ilościach: do 30 próbek w ilości 1,0 IFU na reakcję; do 30 próbek w ilości 0,1 IFU na reakcję; do pozostałych 30 próbek nie dodano materiału. Próbki w podłożu transportowym zostały zamrożone w ciągu 7 dni od pobrania i zbadane w dniach 200 i 400. Próbki spełniły kryteria akceptacji wynoszące 95% zgodności z oczekiwanymi wynikami.

Zgodność próbek klinicznych systemu Tigris DTS

Zgodność systemu Tigris DTS

Zgodność pomiędzy wynikami testów Aptima CT wygenerowanymi przez w pełni zautomatyzowany system Tigris DTS i półautomatyczne systemy DTS została oceniona poprzez badanie wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej, moczu mężczyzn i kobiet, wymazu z pochwy oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. Każda z próbek klinicznych została przebadana indywidualnie przy użyciu testu Aptima CT, zarówno w systemie Tigris DTS, jak i systemie DTS w firmie Hologic. Kolejność badań nie była randomizowana. Próbki zidentyfikowane do włączenia do badań były badane na systemie Tigris DTS, a następnie na systemach DTS.

Badanie zgodności próbek klinicznych – Wymaz z kanału szyjki macicy, wymaz z męskiej cewki moczowej, mocz kobiet i mężczyzn, wymaz z pochwy oraz płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt

Kobiety i mężczyźni uczęszczający do klinik STD, planowania rodziny oraz OB/GYN z ośmiu zróżnicowanych geograficznie miejsc o niskiej lub wysokiej częstości występowania CT dostarczyli wymaz z kanału szyjki macicy, wymaz z męskiej cewki moczowej, mocz kobiet i mężczyzn, wymaz z pochwy oraz płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt. Próbki zostały przesłane bezpośrednio do firmy Hologic w celu przeprowadzenia badań, podczas gdy płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt zostały przetworzone w 2 laboratoriach cytopatologicznych przed ich przesłaniem. W firmie Hologic wymaz z kanału szyjki macicy, wymaz z męskiej cewki moczowej, próbki moczu kobiet i mężczyzn zostały najpierw przebadane testem Aptima Combo 2 przy użyciu systemu Tigris DTS, a wymaz z pochwy i płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt zostały przebadane testem Aptima Combo 2 przy użyciu systemów DTS. Próbki z ostatecznymi nieważnymi lub niejednoznacznymi wynikami nie zostały wybrane do badania zgodności próbek klinicznych Aptima CT.

Do badań porównawczych pomiędzy systemem Tigris DTS i systemami DTS dla testu Aptima CT wybrano dwieście pięć wymazów kobiecych (87 z kanału szyjki macicy i 118 z pochwy), 120 wymazów z męskiej cewki moczowej, 98 moczu kobiet, 115 moczu mężczyzn i 116 płynnych próbek Pap z dodatnim i ujemnym wynikiem testu Aptima Combo 2 CT. Próbki z początkowo nieważnymi lub niejednoznacznymi wynikami zostały ponownie przebadane przy użyciu tego samego systemu, na którym wygenerowano wynik. Jedna próbka moczu kobiety miała początkowo niejednoznaczny wynik w systemach DTS; po ponownym badaniu ostateczny wynik był ważny. Jedna próbka moczu mężczyzny miała początkowo nieważny wynik w systemie Tigris DTS; po ponownym badaniu ostateczny wynik był ważny. Jedna próbka moczu kobiety miała początkowo niejednoznaczny wynik w systemie Tigris DTS; próbka ta została ponownie przebadana, jednakże próbka straciła ważność, więc ostateczny wynik był niejednoznaczny.

Tabela 12 przedstawia zgodność wyników dodatnich, wyników ujemnych i ogólną dla wszystkich sparowanych wyników dla każdego typu próbki według stanu objawów. Próbki są względnie nierówne pod względem stanu objawowego i bezobjawowego, ale ogólna zgodność w przypadku osób z objawami wynosiła 98,5% (131/133) dla wymazów kobiecych (połączonych wymazów z kanału szyjki macicy i pochwy), 100% (60/60) dla wymazów z męskiej cewki moczowej, 98,2% (55/56) dla próbek moczu kobiet, 100% (60/60) dla próbek moczu mężczyzn oraz 100% (81/81) dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. W przypadku uczestników bezobjawowych ogólna zgodność wynosiła 100% odpowiednio dla 72 wymazów kobiecych, 60 wymazów z męskiej cewki moczowej, 42 próbek moczu kobiet, 55 próbek moczu mężczyzn oraz 35 płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. W przypadku „wszystkich” (łącznie objawowych i bezobjawowych) uczestników badania ogólna zgodność wyniosła 99,0% (203/205) dla wymazu kobiecego (połączonych wymazów z kanału szyjki macicy i pochwy), 100% (120/120) dla wymazu z męskiej cewki moczowej, 99,0%

(97/98) dla moczu kobiet, 100% (115/115) dla moczu mężczyzn i 100% (116/116) dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. Ze względu na stosunkowo mniejszą liczbę próbek pobranych od osób bezobjawowych, wyników tych nie można uogólniać na badania z użyciem systemu Aptima CT-Tigris dla próbek pobranych od osób bezobjawowych.

Patrz Tabele 4 i 5a, aby uzyskać informacje o szacunkowej czułości i swoistości testu Aptima CT na podstawie badań w systemach DTS. Oczekuje się, że czułość i swoistość testu Aptima CT przy użyciu systemu Tigris DTS będzie podobna, biorąc pod uwagę wyniki zgodności.

Tabela 12: Badanie zgodności próbek klinicznych: Zgodność wyników dodatnich, wyników ujemnych i całkowita według stanu objawów

Objaw	Próbka	Płeć	n	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris-	DTS- Tigris+	DTS- Tigris-	% zgodność dodatnich (95% CI)	% zgodność ujemnych (95% CI)	% zgodność całkowita (95% CI)
Objaw.	Wymaz	Kobieta*	133	63	1	1	68	98,4 (91,6-100)	98,6 (92,2-100)	98,5 (94,7-99,8)
		Mężczyzna	60	42	0	0	18	100 (91,6-100)	100 (81,5-100)	100 (94,0-100)
	Mocz	Kobieta	56	33	0	1 ¹	22	100 (89,4-100)	95,7 (78,1-99,9)	98,2 (90,4-100)
		Mężczyzna	60	41	0	0	19	100 (91,4-100)	100 (82,4-100)	100 (94,0-100)
	PreservCyt	Kobieta	81	39	0	0	42	100 (91,0-100)	100 (91,6-100)	100 (95,5-100)
	Bezobj.	Wymaz	Kobieta*	72	41	0	0	31	100 (91,4-100)	100 (88,8-100)
Mężczyzna			60	23	0	0	37	100 (85,2-100)	100 (90,5-100)	100 (94,0-100)
Mocz		Kobieta	42	23	0	0	19	100 (85,2-100)	100 (82,4-100)	100 (91,6-100)
		Mężczyzna	55	20	0	0	35	100 (83,2-100)	100 (90,0-100)	100 (93,5-100)
PreservCyt		Kobieta	35	25	0	0	10	100 (86,3-100)	100 (69,2-100)	100 (90,0-100)
Wszystkie		Wymaz	Kobieta*	205	104	1	1	99	99,0 (94,8-100)	99,0 (94,6-100)
	Mężczyzna		120	65	0	0	55	100 (94,5-100)	100 (93,5-100)	100 (97,0-100)
	Mocz	Kobieta	98	56	0	1 ¹	41	100 (93,6-100)	97,6 (87,4-99,9)	99,0 (94,4-100)
		Mężczyzna	115	61	0	0	54	100 (94,1-100)	100 (93,4-100)	100 (96,8-100)
	PreservCyt	Kobieta	116	64	0	0	52	100 (94,4-100)	100 (93,2-100)	100 (96,9-100)

„+” oznacza wynik dodatni, „-” oznacza wynik ujemny, CI = przedział ufności.

*Połączone próbki wymazu z kanału szyjki macicy i pochwy.

¹Próbka miała ostatecznie niejednoznaczny wynik w systemie Tigris DTS.

Badanie precyzji

Wpływ kilku czynników na zmienność wyników testów Aptima CT w systemie Tigris DTS został oceniony przy użyciu 12-elementowych paneli odtwarzalności STD. Elementy panelu zawierały od 0 do 5000 fg rRNA CT/test. Panel zawierał elementy panelu ze stężeniami CT na poziomie wymaganej czułości analitycznej wynoszącej 5 fg rRNA CT/test.

Panele zostały przebadane w jednym zewnętrznym ośrodku badawczym oraz w firmie Hologic przy użyciu dwóch partii odczynników analitycznych Aptima CT. W firmie Hologic dwóch operatorów wykonywało po trzy prawidłowe listy robocze na każdą partię odczynnika na każdym z dwóch urządzeń systemu Tigris DTS. W zewnętrznym ośrodku badawczym dwóch operatorów wykonało po trzy prawidłowe listy robocze dla każdej partii odczynnika na jednym urządzeniu systemu Tigris DTS. Jedna lista robocza składała się z kontroli serii i sześciu 12-elementowych paneli.

Odtwarzalność została określona poprzez obliczenie zgodności pomiędzy ostatecznymi wynikami testów a oczekiwanym wynikiem dla każdego elementu panelu. Odtwarzalność oceniano również poprzez obliczenie SD i współczynnika zmienności (CV) sygnału w odniesieniu do ośrodków, operatorów, partii i list roboczych. Nie obliczono współczynników CV dla elementów panelu ujemnych pod względem CT ze względu na niskie wartości sygnału, które teoretycznie mogłyby być równe zero. Tabela 13 przedstawia wyniki odtwarzalności. Wyniki wszystkich testów Aptima CT w systemie Tigris DTS były zgodne z oczekiwanymi. Wartości CV były mniejsze lub równe 3,4%. Dane te wskazują na doskonałą odtwarzalność testu Aptima CT przy użyciu systemu Tigris DTS.

Tabela 13: Dane dotyczące precyzji systemu Tigris DTS

Stęż. (fg rRNA na test)	n	Średnia RLU (x1000)	% zgodność	Pomiędzy ośrodkami		Pomiędzy operatorami		Pomiędzy partiami		Pomiędzy listami roboczymi		W ramach listy roboczej	
				SD ¹ (x1000)	CV ¹ (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD ¹ (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
0	863	2,9	100	1,4	N/D	0,3	N/D	0,0	N/D	0,2	N/D	2,2	N/D
5	432	7041	100	32,0	0,5	217	3,1	63,7	0,9	174	2,5	206	2,9
50	433 ²	7090	100	0,0	0,0	224	3,2	93,1	1,3	168	2,4	189	2,7
500	431 ³	7130	100	0,0	0,0	240	3,4	96,9	1,4	164	2,3	217	3,0
5 000	432	7152	100	0,0	0,0	208	2,9	85,7	1,2	179	2,5	211	3,0

Stęż. = Stężenie, CV = Współczynnik zmienności, N/D = Nie dotyczy próbek ujemnych, RLU = Jednostki względne światła, SD = Odchylenie standardowe.

¹Wartości SD i CV ustala się odpowiednio na 0 i 0,0%, zgodnie z modelem efektów losowych, jeżeli zmienność wynikająca z tego źródła w stosunku do błędów losowych lub zmienności innych źródeł jest liczbowo ujemna.

²Jedna lista robocza zawierała 1 dodatkowy replikat elementu panelu z 50 fg rRNA/test.

³Na jednej liście roboczej brakowało 1 replikatu elementu panelu z 500 fg rRNA/test.

Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS

Patrz *Skuteczność analityczna systemu Panther*, aby uzyskać informacje o specyficznej dla Panther System skuteczności analitycznej.

Badanie równoważności czułości analitycznej

Panele czułości w puli wymazów z kanału szyjki macicy, puli próbek z pochwy, puli próbek moczu i puli płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt zostały przygotowane przy odpowiedniku rRNA CT wynoszącym 1 IFU na test (7,25 IFU/wymaz i 5 IFU/mL moczu) i przebadane w 60 replikatach w systemie Tigris DTS. Procentowa dodatniość (95% C.I.) w systemie Tigris DTS dla próbki wymazu z kanału szyjki macicy wyniosła 100% (95,1 - 100), dla próbki wymazu z pochwy wyniosła 100% (95,1 - 100), dla próbki moczu wyniosła 100% (95,1 - 100) oraz dla płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt wyniosła 100% (95,1 - 100).

Badanie panelu klinicznego z domieszką rRNA CT

Badanie panelu klinicznego z domieszką rRNA CT oceniło zgodność pomiędzy dwoma systemami (systemem Tigris DTS i systemem DTS), wykorzystując sześć paneli klinicznych CT przygotowanych przez firmę Hologic, z domieszką od 0 do 5000 fg rRNA/test CT. Panele kliniczne CT zostały utworzone na podstawie wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z pochwy, wymazu z cewki moczowej, moczu mężczyzn, moczu kobiet oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt, które uzyskały ujemne wyniki testu Aptima CT na systemach DTS podczas testów w firmie Hologic. Próbkę ujemne zostały połączone według typu próbki, z domieszką lub bez domieszki rRNA CT i pobrane jako replikaty dla każdego elementu panelu. Replikaty każdego z 6 elementów panelu z różnymi poziomami rRNA zostały połączone w celu stworzenia jednego panelu klinicznego dla każdego typu próbki. Każdy panel zawierał łącznie 132 replikaty.

Tabela 14 przedstawia procentową zgodność dla każdego poziomu rRNA w panelach zawierających wymazy z kanału szyjki macicy, wymazy z pochwy, wymazy z cewki moczowej, mocz mężczyzn, mocz kobiet i płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt, odpowiednio, z oczekiwanymi wynikami CT dla systemu Tigris DTS i dla systemów DTS. Zakres stężeń wynosił od 1 log poniżej do 3 log powyżej 5 fg rRNA/test dla CT. W Tabeli 14 przedstawiono również ogólne procentowe zgodności badania panelu klinicznego pomiędzy systemem Tigris DTS a systemami DTS.

Tabela 14: Badanie zgodności panelu klinicznego z domieszką rRNA CT

Próbka	Element panelu	Stężenie (fg rRNA/test)	Replikaty	% zgodność Tigris	% zgodność DTS	Całkowita % zgodność pomiędzy Tigris a DTS (95% CI)
	Kanał szyjki macicy	Brak cząsteczek szukanych	12	100	100	100 (97,2-100)
		Bardzo niskie	30	100	100	
		Niskie	30	100	100	
		Średnie	30	100	100	
		Wysokie	30	100	100	
Wymaz	Pochwa	Brak cząsteczek szukanych	12	100	100	100 (97,2-100)
		Bardzo niskie	30	100	100	
		Niskie	30	100	100	
		Średnie	30	100	100	
		Wysokie	30	100	100	
	Cewka moczowa	Brak cząsteczek szukanych	12	100	100	100 (97,2-100)
		Bardzo niskie	30	100	100	
		Niskie	30	100	100	
		Średnie	30	100	100	
		Wysokie	30	100	100	
Mocz	Mężczyzna	Brak cząsteczek szukanych	12	91,7 (11/12)	100	99,2 (95,9-100)
		Bardzo niskie	30	100	100	
		Niskie	30	100	100	
		Średnie	30	100	100	
		Wysokie	30	100	100	
	Kobieta	Brak cząsteczek szukanych	12	100	100	100 (97,2-100)
		Bardzo niskie	30	100	100	
		Niskie	30	100	100	
		Średnie	30	100	100	
		Wysokie	30	100	100	
Płynna próbka Pap w PreservCyt		Brak cząsteczek szukanych	12	100	100	100 (97,2-100)
		Bardzo niskie	30	100	100	
		Niskie	30	100	100	
		Średnie	30	100	100	
		Wysokie	30	100	100	

Badanie równoważności swoistości analitycznej

Dla testu amplifikacji kwasu nukleinowego, analityczna swoistość w odniesieniu do poszczególnych mikroorganizmów jest w dużej mierze określona przez właściwości chemiczne testu (np. sekwencje oligonukleotydów), a nie przez platformę. Ponieważ odczynniki do testu Aptima CT w systemie Tigris DTS i systemach DTS są identyczne, badania swoistości analitycznej w systemie Tigris DTS zostały zaprojektowane tak, aby

skupić się na najtrudniejszych izolatach hodowlanych. Wśród tych mikroorganizmów znalazły się te, o których wiadomo, że wchodzi w reakcje krzyżowe w innych testach amplifikacji. Z panelu mikroorganizmów w Tabeli 11 wyselekcjonowano 24 (dwadzieścia cztery) izolaty hodowlane, w tym 3 mikroorganizmy najbardziej zbliżone do CT. Wszystkie badane mikroorganizmy dały ujemne wyniki w systemie Tigris DTS.

Badanie równoważności substancji zakłócających

Krew pełna, substancja powszechnie występująca w próbkach z układu moczowo-płciowego, o której wiadomo, że może zakłócać niektóre testy amplifikacji, została użyta w celu ustalenia, że system Tigris DTS toleruje podobne poziomy potencjalnie zakłócających substancji, jak systemy DTS. Świeżą krew dodano do puli wymazów klinicznych, wymazów z pochwy, moczu i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt, a następnie zbadano pod kątem potencjalnego zakłócania testu w nieobecności i obecności szukanego CT przy szacowanym odpowiedniku rRNA jednego IFU CT/test (5 fg/test). Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu. Próbkę badano na dwóch systemach Tigris DTS. Wszystkie próbki zawierające szukany kwas nukleinowy były dodatnie, gdy testowano je na poziomie 10% krwi w próbkach wymazów, próbkach wymazów z pochwy, próbkach Pap w roztworze PreservCyt i 30% krwi w próbkach moczu. Wszystkie próbki, które nie zawierały cząsteczek szukanых były ujemne na CT. Wyniki te wskazują, że przy badanych poziomach krew pełna prawdopodobnie nie ma wpływu na wynik testu CT w systemie Tigris DTS.

Badanie przenoszenia dla systemu Tigris DTS

Aby ustalić, że system Tigris DTS minimalizuje ryzyko fałszywie dodatnich wyników, wynikających z zanieczyszczenia przez przeniesienie, przeprowadzono badanie z wykorzystaniem paneli z domieszkami na trzech systemach Tigris DTS. W badaniu wykorzystano 20% próbek o wysokiej zawartości cząsteczek szukanых zawierających 1×10^6 fg rRNA CT/mL, które były losowo rozmieszczone wśród 80% próbek ujemnych zawierających podłoża do transportu wymazów. W badaniu przetestowano 576 próbek o wysokim poziomie cząsteczek szukanых i 2376 próbek ujemnych w trzech systemach Tigris DTS. Tabela 15 wykazuje, że ogólny wskaźnik przenoszenia wyniósł średnio 0,21% (5/2364). Łącznie 12 próbek ujemnych uznano za nieważne i zostały one wyłączone z obliczeń. Przeprowadzono oddzielną analizę na podzbiórce populacji badanej, składającej się z próbek ujemnych, które bezpośrednio następowały po dodatnim wyniku dla próbki o wysokiej zawartości cząsteczek szukanых. Wskaźnik przenoszenia dla tego podzbioru populacji wyniósł średnio 0,47% (2/424). W przypadku wyników fałszywie dodatnich w tym podzbiórce, wskaźnik przenoszenia wyniósł od 0% do 1,43% we wszystkich trzech systemach Tigris DTS. Wyniki te pokazują, że zanieczyszczenie przez przenoszenie jest w systemie Tigris DTS zminimalizowane.

Tabela 15: Podsumowanie całkowitego przenoszenia w systemie Tigris DTS

Urządzenie	I. ważnych testów ujemnych	Łączna I. fałszywie dodatnich wyników na CT	% fałszywie dodatnich wyników na CT	Przedziały ufności (95% CI)
Tigris 1	789	2 ^a	0,25	0,03 – 0,91
Tigris 2	783	3 ^b	0,38	0,08 – 1,12
Tigris 3	792	0 ^c	0,00	0,00 – 0,38
Wszystkie urządzenia	2364	5	0,21	0,07 – 0,49

^a. W przypadku Tigris 1 nie odnotowano wyników fałszywie dodatnich w badaniu na CT bezpośrednio po uzyskaniu wyniku dodatniego w badaniu próbki o wysokiej zawartości cząsteczek szukanых.

^b. W przypadku Tigris 2 odnotowano dwa wyniki fałszywie dodatnie w badaniu na CT bezpośrednio po uzyskaniu wyniku dodatniego w badaniu próbki o wysokiej zawartości cząsteczek szukanых.

^c. W przypadku Tigris 3 nie odnotowano wyników fałszywie dodatnich w badaniu na CT bezpośrednio po uzyskaniu wyniku dodatniego w badaniu próbki o wysokiej zawartości cząsteczek szukanых.

Skuteczność analityczna systemu Panther

Badanie zgodności panelu klinicznego z domieszką

Do pojedynczych ujemnych próbek moczu dodano serotyp G CT, aby stworzyć panel 120 próbek dodatnich CT. Do dodatnich na CT elementów panelu dodano mikroorganizmy w stężeniu 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL lub 25 IFU/mL (0,5 fg/test, 5 fg/test lub 50 fg/test). Dodatkowo pobrano 120 próbek moczu ujemnych na CT. Panele dodatnie i ujemne były testowane na trzech systemach Panther i trzech Tigris DTS. Procentowa zgodność wyników dodatnich pomiędzy systemem Panther a systemem Tigris DTS wynosiła 100% przy niższym 95-procentowym przedziale ufności 98,9 dla CT. Procentowa zgodność wyników ujemnych pomiędzy systemem Panther a systemami Tigris DTS wynosiła 100% przy niższym 95-procentowym przedziale ufności 98,9. Wyniki badania przedstawiono w Tabeli 16.

Tabela 16: Badanie zgodności panelu klinicznego z domieszką: Zgodność z oczekiwanymi wynikami na CT

Element panelu	Stężenie		Replikaty	Tigris % zgodność	Panther % zgodność
	IFU/mL	fg/test			
Bardzo niskie dodatnie	0,25	0,5	120	100	100
Niskie dodatnie	2,5	5	120	100	100
Średnie dodatnie	25	50	120	100	100
Ujemne	0	0	360	100	100

Całkowita procentowa zgodność wyników dodatnich pomiędzy Tigris a Panther (95% CI): 100% (98,9 – 100).

Całkowita procentowa zgodność wyników ujemnych pomiędzy Tigris a Panther (95% CI): 100% (98,9 – 100).

Badanie czułości analitycznej

Czułość analityczna testu Aptima CT została zbadana przy użyciu trzech reprezentatywnych matryc próbek. Był to mocz przetworzony za pomocą podłoża transportowego do moczu (UTM), płynna próbka Pap w roztworze PreservCyt rozcieńczona podłożem transportowym do wymazów (STM) oraz STM. rRNA CT wprowadzono do puli tych trzech matryc w stężeniach wynoszących odpowiednio 0,5 fg/test, 5 fg/test i 50 fg/test (odpowiedniki rRNA w ilości 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL lub 25 IFU/mL). Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu. Panele te zostały przebadane na trzech systemach Panther przy użyciu dwóch partii odczynników w replikatach po 96. Obliczono procentową zgodność wyników dodatnich. Zgodność z oczekiwanymi wynikami wynosiła 100% (95% CI 96,2-100%) dla wszystkich paneli moczu, 100% (95% CI 96,1-100%) dla wszystkich paneli płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt oraz 100% (95% CI 96,0-100%) dla wszystkich paneli STM. Czułość analityczna testu wynosi 2,5 IFU/mL.

Badanie powtarzalności

Przeprowadzono ocenę precyzji testu Aptima CT dla trzech systemów Panther i dwóch partii zestawów testów Aptima CT w okresie 24 dni. Panele zostały utworzone poprzez wprowadzenie rRNA CT do STM w stężeniach pokazanych w Tabeli 17. Operatorzy przeprowadzili dwie serie dziennie, badając każdy element panelu w dwóch replikatach na serię. Obliczono zgodność z oczekiwanym wynikiem i oszacowano precyzję zgodnie z wytycznymi NCCLS EP5-A2 (19). Całkowita liczba replikatów dla każdego panelu wyniosła 93-96. Tabela 17 przedstawia dane RLU dot. precyzji w kategoriach Średniej, Odchylenia standardowego, Współczynnika zmienności (CV), procentowej zgodności z oczekiwanymi wynikami oraz obliczenia zmienności pomiędzy urządzeniami, pomiędzy partiami, pomiędzy seriami i wewnątrz serii.

Tabela 17: Precyzja systemu Panther dla testu Aptima CT

Matryca	CT (IFU/mL)	N*	Średnie RLU (x1000)	% zgodność	Pomiędzy urządzeniami		Pomiędzy partiami		Pomiędzy seriami		Wewnątrz serii		Ogółem	
					SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
STM	0	96	2	100	0,38	21,3	0,64	35,8	0	0	1,86	104,6	2	112,3
	0,25	93	7390	100	221,74	3	264,35	3,6	0	0	180,07	2,4	389,2	5,3
	2,5	96	7478	100	224,45	3	249,88	3,3	53,1	0,7	164,57	2,2	377,8	5,1
	25	96	7482	100	222,23	3	233,36	3,1	46,47	0,6	180,29	2,4	372,2	5
Mocz	0	95	2	100	0,23	12,7	0,38	20,7	0,52	28,5	1,3	71	1,5	81,9
	0,25	96	6978	100	276,94	4	330,57	4,7	66,36	1	264,73	3,8	510,4	7,3
	2,5	95	7291	100	121,2	1,7	154,63	2,1	73,51	1	148,13	2	256,8	3,5
	25	95	7349	100	121,57	1,7	181,34	2,5	66,87	0,9	162,45	2,2	280,2	3,8
PreservCyt	0	96	7	97,9	3,36	46,1	0,29	4	0	0	20,52	281,4	20,8	285,3
	0,25	96	6996	100	225,16	3,2	209,86	3	0	0	164,87	2,4	349,2	5
	2,5	95	7079	100	246,89	3,5	172,55	2,4	0	0	151,67	2,1	337,2	4,8
	25	96	7050	100	262,52	3,7	167,79	2,4	0	0	192,5	2,7	366,2	5,2

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W tym przypadku SD=0 i CV=0%.

* Całkowita liczba replikatów dla każdego panelu = 96. W wybranych badaniach, poszczególne nieważne replikaty nie były ponownie badane.

Swoistość analityczna

Nie badano swoistości analitycznej w urządzeniu Panther. Aby uzyskać więcej informacji o *Badanie równoważności swoistości analitycznej*, patrz *Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS*.

Badanie równoważności substancji zakłócających

Krew, powszechnie występująca w próbkach z układu moczowo-płciowego, może zakłócać niektóre testy amplifikacji. W celu ustalenia stopnia oddziaływania krwi na systemie Panther w odniesieniu do tego potencjalnego czynnika zakłócającego użyto pełnej krwi. Świeżą krew dodawano do puli klinicznych próbek wymazów z pochwy, przetworzonych płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt lub próbek moczu, a następnie badano pod kątem potencjalnego wpływu na wynik testu w obecności i przy braku CT. Jako stężenie cząsteczek szukanych wykorzystano szacunkowy odpowiednik rRNA dla jednej (1) IFU CT/test (5 fg/test), ponieważ reprezentuje to czułość analityczną testu. Próbkę były badane w systemie Panther. Wszystkie próbki zawierające szukany kwas nukleinowy były dodatnie, gdy testowano je na poziomie 10% (obj./obj.) krwi w wymazach lub płynnych próbkach Pap w roztworze PreservCyt lub 30% (obj./obj.) krwi w próbkach moczu. Wszystkie próbki, które nie zawierały cząsteczek szukanych, zostały prawidłowo zidentyfikowane jako ujemne. Wyniki te są identyczne z tymi, które wykazano dla systemu Tigris DTS, gdy do próbek dodano te same ilości krwi. Krew dodana do próbek wymazu, próbek w roztworze PreservCyt i próbek moczu, w ilościach znacznie wyższych niż można by się spodziewać przy normalnym pobieraniu próbek, nie zakłóciła wyników uzyskanych z użyciem systemu Panther.

Badanie przenoszenia dla systemu Panther

Aby ustalić, że system Panther minimalizuje ryzyko fałszywie dodatnich wyników, wynikających z zanieczyszczenia przez przeniesienie, przeprowadzono badanie analityczne na wielu seriach z wykorzystaniem paneli z domieszkami na trzech aparatach systemu Panther. Przenoszenie zostało ocenione przy użyciu około 20% próbek o wysokim mianie CT, rozproszonych pomiędzy próbkami ujemnymi. Serie zawierały skupiska wysoko dodatnich próbek ze skupiskami próbek ujemnych, jak również pojedyncze wysoko dodatnie próbki rozproszone w określonym wzorze w obrębie serii. Próbki o wysokim mianie zostały wykonane przy użyciu rRNA CT wprowadzonego do STM, aby uzyskać końcowe stężenie 5×10^5 fg rRNA/reakcję (odpowiednik rRNA w ilości $2,5 \times 10^5$ IFU/mL). Badanie przeprowadzono przy użyciu 5 serii na trzech systemach Panther, z łączną liczbą 2933 próbek ujemnych. Ogólny wskaźnik przenoszenia wyniósł 0% przy przedziale 95% ufności wynoszącym 0-0,1%. Łącznie 7 próbek ujemnych uznano za nieważne w badaniach przenoszenia o wysokim mianie i wyłączono je z obliczeń.

Bibliografia

1. **Beem, M. O. i E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. *NEJM* **296**:306-310.
2. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram i H. H. Lee.** 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. *J. Clin. Microbiol.* **34**:2395-2400.
3. **Cates, Jr., W. i J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **164**:1771-1781.
4. **Centra Kontroli i Prewencji Chorób.** 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. *United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep.* **51** (RR-15).
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** Sexually Transmitted Disease Surveillance 2019. Ostatnia aktualizacja: 13 kwietnia 2021 r. Dostęp: 6 maja 2021 r., <https://www.cdc.gov/std/statistics/2019/overview.htm>
6. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano i J. B. Mahony.** 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. *Mol. Cell. Probes.* **11**:243-249.
7. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrich, P. Barriga i M. Chernesky.** 2003. Specimen processing and concentration of *Chlamydia trachomatis* added can influence false-negative rates in the LCx assay but not in the Test APTIMA Combo 2 when testing for inhibitors. *J. Clin. Microbiol.* **41**:778-782.
8. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos i T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Hologic AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. *J. Clin. Microbiol.* **36**:391-394.
9. **CUMITECH 31.** Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory.- ASM PRESS, LUTY 1997.
10. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang i K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. *Journal of Pediatrics* **95**:28-32.
11. **Gaydos, C. A., T.C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro oraz J. Schachter.** 2003. Performance of the Test APTIMA Combo 2 for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. *J. Clin. Microbiol.* **41**:304-309.
12. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh i R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. *J. Clin. Microbiol.* **35**:2628-2633.
13. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson i E. R. Alexander.** 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. *NEJM* **292**:1199-1205.
14. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh i T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. *J. Clin. Microbiol.* **31**:1209-1212.
15. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors i M. Chernesky.** 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. *J. Clin. Microbiol.* **36**:3122-3126.
16. **McCurdy, Brenda W.** 1997. Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory. Luty, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
17. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (tom 19, nr 2).
18. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
19. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (wydanie 2, tom 24, nr 25).
20. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes i L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test, *J. Clin. Microbiol.* **35**:957-959.
21. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), str. 856-862. w E. H. Lennette, i in. (wyd.), *Manual of Clinical Microbiology*, wyd. 4 American Society for Microbiology, Washington, D.C.
22. **Schachter, J. i M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
23. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
24. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones i K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **123**:753-757.
25. **Sary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz i H. Lee.** 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. *J. Clin. Microbiol.* **36**:2666-2670.
26. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska i K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. *J. Clin. Microbiol.* **36**:2356-2358.

27. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos i H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. J. Clin. Microbiol. **34**:3072-3074.
28. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher i M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. J. Clin. Microbiol. **3**:74-80.
29. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins i H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. Infect. Immun. **57**:1040-1049.



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



Hologic BV, Da Vincilaan 5
1930 Zaventem, Belgium

Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park, NSW 2113

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

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Leader, PreservCyt, Panther, SB100, ThinPrep, Tigris i TMA są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub spółek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

ependorf (stylizowany znak) i REPEATER są znakami towarowymi firmy Eppendorf AG.

KOVA-TROL jest znakiem towarowym firmy Hycor Biomedical, Inc.

RAININ jest znakiem towarowym firmy Rainin Instrument, LLC.

TECAN i FREEDOM EVO są znakami towarowymi firmy Tecan Group AG.

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

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

© 2000-2022 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

502184PL wer. 010
2022-06