

Test Aptima® Neisseria gonorrhoeae Assay

Istruzioni per l'uso
Per uso diagnostico *in vitro*
Solo per l'esportazione dagli U.S.A.

Informazioni generali	2
Usò previsto	2
Sintesi e spiegazione dell'analisi	2
Principi della procedura	3
Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione	3
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	7
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	8
Panther System	10
Reagenti e materiali forniti	10
Materiali richiesti ma disponibili separatamente	11
Materiali opzionali	12
Procedura di analisi del Panther System	12
Note procedurali	15
Interpretazione del test – CQ/Risultati relativi ai pazienti	17
Limiti	20
Risultati degli studi clinici	22
Valori attesi	23
Prestazioni cliniche del sistema DTS	27
Concordanza dei campioni clinici	38
Concordanza dei campioni clinici sul Panther System	41
Prestazioni cliniche del Panther System	42
Prestazioni analitiche	47
Bibliografia	55
Recapiti e Cronologia delle revisioni	56

Informazioni generali

Uso previsto

Il test Aptima® *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Assay è un test con sonda di acido nucleico per l'amplificazione del target, che utilizza la cattura del target e la tecnologia di amplificazione mediata da trascrizione (TMA™) per il rilevamento qualitativo *in vitro* dell'RNA ribosomiale (rRNA) da *Neisseria gonorrhoeae*, per aiutare nella diagnosi della malattia urogenitale gonococcica mediante l'uso del Panther® System. Il test può essere usato per analizzare i seguenti campioni derivanti da individui sintomatici: campioni di tamponi endocervicali, vaginali e dell'uretra maschile raccolti dal medico, campioni di tampone vaginale¹ raccolti dalla paziente e campioni di urina femminile e maschile. Il test può essere usato per analizzare i seguenti campioni derivanti da individui asintomatici: campioni di tamponi endocervicali e vaginali raccolti da medici, campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente¹ e campioni di urina femminile e maschile. Il test è altresì destinato all'utilizzo con l'analisi di campioni ginecologici derivanti da pazienti sia sintomatiche sia asintomatiche, raccolti in soluzione PreservCyt®.

¹I campioni di tampone vaginale raccolti dalle pazienti rappresentano un'opzione di screening per le donne, laddove non sia altrimenti indicato un esame pelvico.

Sintesi e spiegazione dell'analisi

Le infezioni da *Neisseria gonorrhoeae* sono una delle malattie a trasmissione sessuale più diffuse al mondo. La stima annuale di nuove infezioni da *N. gonorrhoeae* negli Stati Uniti è di 1.568.000 casi (1).

N. gonorrhoeae è un diplococco Gram-negativo non mobile, agente eziologico della gonorrea. La maggior parte delle infezioni gonococciche sono infezioni senza complicazioni del tratto genitale inferiore e possono essere asintomatiche. Tuttavia, se non trattate nelle donne, le infezioni possono aggravarsi e causare il processo flogistico pelvico (PID). Il PID può manifestarsi come endometrite, salpingite, peritonite pelvica e ascessi salpingo-ovarici. Una più piccola percentuale di persone colpite da infezioni gonococciche può sviluppare l'infezione gonococcica disseminata (Disseminated Gonococcal Infection - DGI) (2, 3).

La diagnosi convenzionale delle infezioni da GC richiede l'isolamento dell'organismo in terreni di coltura selettivi o l'osservazione dei diplococchi su strisci a colorazione di Gram (4). I metodi di coltura possono avere una buona sensibilità clinica, ma dipendono fortemente da un'adeguata manipolazione dei campioni. Una conservazione e un trasporto inadeguati del campione possono determinare la perdita di vitalità degli organismi e dare risultati falsi negativi. Inoltre, una cattiva tecnica di campionamento, materiali di campionamento tossici e l'inibizione della crescita da parte di componenti delle secrezioni corporee possono anch'essi determinare risultati falsi negativi (5, 6). Metodi non basati su coltura comunemente usati per il rilevamento di GC includono le prove dirette del DNA con sonda e i test di amplificazione dell'acido nucleico (NAAT).

I test NAAT di prima generazione per GC presentano problemi tecnologici che hanno limitato le loro prestazioni. Tali problemi includono un trattamento macchinoso dei campioni e l'inibizione del campione che possono produrre risultati falsi negativi (7). Il test Aptima GC Assay è un test NAAT di seconda generazione che utilizza le tecnologie di cattura del target, TMA e analisi con protezione dell'ibridizzazione (HPA) per semplificare rispettivamente il trattamento dei campioni, amplificare l'rRNA target e rilevare l'amplicone. Recenti studi che confrontano le prestazioni e l'inibizione dei campioni di vari sistemi di amplificazione hanno dimostrato i vantaggi delle tecnologie di cattura del target, TMA e HPA (8, 9).

Secondo la "Guidance for the detection of gonorrhoea in England", una guida del 2021 emessa dall'agenzia per la promozione della salute britannica Public Health England, un test per la gonorrea deve fornire un valore predittivo positivo (VPP) minimo del 90% nella realtà locale o nella popolazione di pazienti (10). Se il VPP scende al di sotto di questa soglia, è necessaria un'analisi supplementare che confermi i risultati positivi del test per aumentare il VPP. Le analisi supplementari vengono descritte come un secondo test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) eseguito sullo stesso campione, ma che rileva una diversa sequenza target dell'acido nucleico. Sia il test Aptima GC Assay sia il test Aptima Combo 2® Assay prendono di mira la subunità dell'rRNA 16S per la cattura e il rilevamento. L'oligomero di cattura è analogo per entrambi i test, ma il test Aptima GC Assay è in grado di rilevare una regione diversa della subunità dell'rRNA 16S rispetto al test Aptima Combo 2 Assay, e può dunque essere considerato un test supplementare idoneo ad aumentare il VPP dell'analisi Aptima Combo 2, se indicato dalle linee guida sanitarie locali.

Principi della procedura

I campioni biologici vengono raccolti e trasferiti nelle rispettive provette di trasporto dei campioni. La soluzione di trasporto contenuta in queste provette rilascia le molecole di rRNA target, proteggendole dalla degradazione durante la conservazione. Quando il test Aptima GC Assay viene eseguito in laboratorio, la molecola di rRNA target viene isolata dai campioni mediante l'uso di un oligomero di cattura, con un metodo di cattura del target che si avvale di microparticelle magnetiche. L'oligomero di cattura contiene una sequenza complementare di una specifica regione della molecola target oltre a un filamento di residui di deossadenosina. Durante il procedimento di ibridizzazione, la regione specifica della sequenza dell'oligomero di cattura si lega a una regione specifica della molecola target. Il complesso oligomero di cattura:target viene quindi catturato fuori dalla soluzione mediante riduzione della temperatura di reazione fino a temperatura ambiente. Questa riduzione della temperatura permette che si verifichi l'ibridizzazione fra la regione della deossadenosina sull'oligomero di cattura e le molecole di poli-deossitimidina unite con legame covalente alle particelle magnetiche. Le microparticelle, incluse le molecole target catturate ad esse legate, vengono spinte sul lato del contenitore di reazione usando dei magneti, e il supernatante viene aspirato. Le particelle vengono sottoposte a lavaggio per rimuovere la matrice del campione residua, che potrebbe contenere inibitori della reazione di amplificazione. Una volta completate le fasi di cattura del target, i campioni sono pronti per l'amplificazione.

I dosaggi di amplificazione del target si basano sulla capacità dei primer oligonucleotidici complementari di eseguire l'ibridizzazione specifica e di permettere l'amplificazione enzimatica dei filamenti di acidi nucleici target. La reazione TMA di Hologic® replica una regione specifica dell'rRNA 16S dalla GC attraverso intermedi del DNA. Per ciascuna molecola target viene usata una serie univoca di primer. Il rilevamento delle sequenze del prodotto di amplificazione dell'rRNA (amplicone) viene ottenuto mediante l'ibridizzazione dell'acido nucleico. Una sonda di DNA chemiluminescente a singolo filamento, complementare a una regione dell'amplicone target, viene marcata con una molecola di estere di acridinio. La sonda di DNA marcata si combina con l'amplicone per formare ibridi RNA:DNA stabili. Il reagente di selezione (Selection) differenzia la sonda ibridizzata da quella non ibridizzata, eliminando la generazione di segnale dalla seconda. Durante il procedimento di rilevamento, la luce emessa dagli ibridi marcati RNA:DNA viene misurata come segnali fotonici in un luminometro, che vengono riportati come Unità relative di luce (Relative Light Units o RLU).

Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione

La SSP (Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione) è disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed), dove è collegato agli identificativi del dispositivo (UDI-DI di base). Per individuare l'SSP relativa al test Aptima GC Assay, fare riferimento all'identificativo unico del dispositivo di base (Basic Unique Device Identifier - BUDI): **54200455DIAGAPTGCQL**.

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per uso professionale.
- C. Al fine di ridurre il rischio di risultati non validi, leggere attentamente l'intero foglietto illustrativo e il *Panther/Panther Fusion® System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion® System) prima di eseguire il test.
- D. Questa procedura può essere eseguita esclusivamente da personale adeguatamente formato nell'utilizzo del test Aptima GC Assay e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi. Se si verifica un versamento, disinfettare immediatamente seguendo le procedure del centro appropriate.
- E. Per ulteriori specifiche avvertenze, precauzioni e procedure per il controllo della contaminazione relative al Panther/Panther Fusion System, consultare il *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System).

Informazioni pertinenti al laboratorio

- F. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- G. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non mangiare, bere né fumare nelle aree di lavoro designate. Quando si maneggiano campioni biologici e reagenti del kit, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti del kit.
- H. **Avvertenza: irritante e corrosivo.** Evitare il contatto di Auto Detect 2 con pelle, occhi e mucose. Se il liquido viene a contatto con pelle od occhi, risciacquare con acqua. Se il liquido si rovescia, diluire quanto rovesciato con acqua prima di asciugarlo con un panno.
- I. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5-3,5% (da 0,35 M a 0,5 M).
- J. Smaltire tutti i materiali entrati in contatto con campioni biologici e reagenti in conformità alle vigenti normative nazionali, internazionali e regionali.
- K. Utilizzare le buone pratiche standard per i laboratori molecolari che includono il monitoraggio ambientale. Consultare le *Note procedurali* per suggerimenti sul Protocollo del laboratorio per il monitoraggio della contaminazione per il Panther system.

Informazioni pertinenti ai campioni

- L. Questo test è stato provato usando soltanto campioni di tamponi endocervicali e uretrali maschili, campioni per pap test raccolti in soluzione PreservCyt, campioni di tampone vaginale e campioni di urina femminile e maschile. Le prestazioni con campioni diversi da quelli specificati nella sezione *Raccolta e conservazione dei campioni biologici* non sono state valutate.
- M. Le date di scadenza indicate nei kit per la raccolta si riferiscono al centro di raccolta e non alla struttura di analisi. I campioni raccolti in qualsiasi momento prima della data di scadenza del kit di raccolta, e che siano trasportati e conservati secondo le istruzioni del foglietto illustrativo, sono validi per l'analisi anche se la data di scadenza sulla provetta di raccolta è passata.

- N. La soluzione PreservCyt è stata convalidata come un mezzo alternativo per l'analisi con il test Aptima GC Assay. I campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt trattati con strumenti diversi dal processore ThinPrep® o con altri strumenti non sono stati valutati per l'utilizzo nel test Aptima GC Assay.
- O. Dopo l'aggiunta dell'urina nell'apposita provetta di trasporto, il livello del liquido deve rientrare fra le due righe nere indicatrici marcate sull'etichetta della provetta. In caso contrario, il campione va rifiutato.
- P. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione biologico per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione biologico in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- Q. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio. L'esecuzione di questa procedura diagnostica deve essere permessa esclusivamente al personale adeguatamente formato nella manipolazione di materiali infettivi.
- R. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni provenienti da pazienti diversi non si tocchino tra loro durante la manipolazione dei campioni in laboratorio. Cambiare i guanti se vengono a contatto con un campione.
- S. Smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare su altri contenitori.
- T. Se il laboratorio riceve una provetta di trasporto dei campioni di tampone che non contiene alcun tampone o contiene due tamponi, un tampone di pulizia o un tampone non fornito da Hologic, il campione va rifiutato. Prima di rifiutare una provetta di trasporto del tampone che non contenga tampone, verificare che non si tratti di una provetta di trasporto del campione Aptima®, in quanto non è previsto che questa provetta di trasporto del campione contenga un tampone.
- U. Per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt, raccogliere il campione seguendo le istruzioni del fabbricante. Aliquote rimosse successivamente dalla fiala PreservCyt per l'analisi mediante il test Aptima GC Assay, devono essere trattate usando solo il Kit di trasferimento dei campioni Aptima®.
- V. In determinate condizioni, i tappi delle provette di trasporto dei campioni Aptima possono lasciar uscire del liquido al momento della foratura. Per impedire questa evenienza, seguire le istruzioni nella sezione *Procedura di analisi del Panther System*.


Informazioni pertinenti al test

- W. Non utilizzare questo kit o questi controlli dopo la data di scadenza.
- X. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti per test provenienti da kit con numeri di lotto diversi. I controlli e i liquidi per test Aptima possono avere numeri di lotto diversi.
- Y. Evitare la contaminazione microbica e da nucleasi dei reagenti.
- Z. Tappare e conservare i reagenti alle temperature specificate. L'uso di reagenti conservati in modo improprio può influire sulle prestazioni del test. Consultare le sezioni *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti* e *Procedura di analisi del Panther System* per maggiori informazioni.

AA. Non combinare reagenti o liquidi dell'esame senza istruzioni specifiche. Non rabboccare i flaconi di reagenti o liquidi. Il Panther System verifica i livelli dei reagenti.

AB. Alcuni reagenti di questo kit sono etichettati con simboli di rischio e sicurezza.

Nota: le comunicazioni di pericolo utilizzano le classificazioni delle schede di sicurezza (SDS) dell'UE. Per le informazioni sulle comunicazioni di pericolo specifiche della propria regione, fare riferimento alla libreria delle schede di sicurezza (Safety Data Sheet Library) all'indirizzo www.hologicds.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli alla pagina www.hologic.com/package-inserts.

Informazioni sui rischi UE	
—	<p>Amplification Reagent HEPES 25-30%</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
—	<p>Enzyme Reagent TRITON X-100 1- 5%</p> <p>—</p> <p>H402 - Nocivo per gli organismi acquatici. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
—	<p>Probe Reagent LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35 - 40% SUCCINIC ACID 10 - 15%</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
—	<p>Enzyme Reconstitution Solution GLICERINA 20-25% TRITON X-100 5-10%</p> <p>—</p> <p>H402 - Nocivo per gli organismi acquatici. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
	<p>Selection Reagent ACIDO BORACICO 0 - 10% TRITON X-100 0-10% IDROSSIDO DI SODIO 0 - 10%</p> <p>PERICOLO H315 - Provoca irritazione cutanea. H360FD - Può nuocere alla fertilità. Può nuocere al feto. P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso. P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. P321 - Trattamento specifico (vedere le istruzioni supplementari per il primo soccorso su questa etichetta). P201 - Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso. P202 - Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze. P405 - Conservare sotto chiave. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>

Target Capture Reagent

HEPES 5 - 10%

EDTA 1-5%

LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 - 5%

—
H401 - Tossico per gli organismi acquatici.

H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P273 - Non disperdere nell'ambiente.

P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

- A. La seguente tabella mostra le condizioni di conservazione e la stabilità di reagenti e controlli.

Reagente	Conservazione a confezione chiusa	Kit aperto (ricostituito)	
		Conservazione	Stabilità
Reagente di amplificazione	2 °C-8 °C		
Reagente enzimatico	2 °C-8 °C		
Reagente sonda	2 °C-8 °C		
Reagente di cattura del bersaglio B	2 °C-8 °C		
Soluzione di ricostituzione e amplificazione	2 °C-30 °C	2 °C-8 °C	60 giorni
Soluzione di ricostituzione enzimatica	2 °C-30 °C	2 °C-8 °C	60 giorni
Soluzione di ricostituzione sonda	2 °C-30 °C	2 °C-8 °C	60 giorni
Reagente di selezione	2 °C-30 °C	2 °C-30 °C	60 giorni
Reagente di cattura del target	15 °C-30 °C	15 °C-30 °C	60 giorni
Controllo positivo	2 °C-8 °C		Fiala monouso
Controllo negativo	2 °C-8 °C		Fiala monouso

- B. Se il Reagente di selezione viene conservato refrigerato, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente prima di collocarlo sul Panther System.
- C. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperature comprese fra 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):
Reagente di cattura del target.
- D. Il Reagente di cattura del target di lavoro GC (wTCR) rimane stabile per 60 giorni se conservato a temperature comprese fra 15 °C e 30 °C. Non refrigerare.
- E. Dopo la ricostituzione, il Reagente enzimatico, il Reagente di amplificazione e il Reagente sonda sono stabili per 60 giorni se conservati a temperature comprese fra 2 °C e 8 °C.
- F. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e il wTCR dopo 60 giorni o dopo la data di scadenza del Lotto di riferimento, a seconda di quale data cada per prima.
- G. Evitare la contaminazione crociata durante la manipolazione e la conservazione del reagente. Prima della conservazione,appare sempre tutti i reagenti ricostituiti con nuovi tappi del reagente.
- H. I Controls sono stabili fino alla data indicata sulle fiale.
- I. I reagenti conservati sul Panther System hanno 72 ore di stabilità a bordo.
- J. Il Reagente sonda e il Reagente sonda ricostituito sono fotosensibili. Conservare i reagenti al riparo dalla luce.

- K. Una volta riscaldate fino a temperatura ambiente, alcune provette di controllo potrebbero apparire torbide o contenere precipitati. Torbidità o precipitazione associate ai controlli non hanno impatto sulle prestazioni dei controlli stessi. I Controls possono essere usati sia quando sono trasparenti sia quando sono torbidi o contengono precipitato. Se si desiderano Controls trasparenti, la solubilizzazione può essere sveltita incubandoli alla fascia superiore dell'intervallo di temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C).
- L. Non congelare i reagenti.

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Nota: maneggiare tutti i campioni biologici come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.

Nota: prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.

Il test Aptima GC Assay è concepito per rilevare la presenza di GC nei campioni di tampone endocervicale, vaginale e uretrale maschile raccolti dal medico, nei campioni di tampone vaginale, nei campioni di urina maschile e femminile raccolti dal/dalla paziente, e nei campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt. Le prestazioni con campioni diversi da quelli raccolti con i seguenti kit di raccolta dei campioni non sono state valutate:

- Kit di raccolta dei campioni di tampone Aptima Multitest
- Kit di raccolta di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili
- Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tampone uretrali maschili ed endocervicali
- Kit di trasferimento dei campioni Aptima (per l'uso con i campioni ginecologici raccolti nella soluzione PreservCyt)

A. Raccolta dei campioni biologici

consultare il foglietto illustrativo del kit di raccolta dei campioni corrispondente, per istruzioni sulla raccolta.

B. Trasporto e conservazione dei campioni prima dell'analisi

1. Campioni di tampone

- a. Dopo la raccolta, trasportare e conservare il tampone nella provetta di trasporto dei campioni a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C fino al momento dell'analisi. L'analisi dei campioni con il test Aptima GC Assay deve avvenire entro 60 giorni dalla raccolta. Laddove fosse necessario un tempo di conservazione più lungo, congelare i campioni urogenitali nella provetta di trasporto dei campioni di tampone entro 7 giorni dalla raccolta, a una temperatura compresa tra -20 °C e -70 °C, per consentirne l'analisi fino a 12 mesi dopo la raccolta (vedere *Studi sulla stabilità dei campioni*).

2. Campioni di urina

- a. Dopo la raccolta, mantenere i campioni di urina a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C, e trasferirli nella provetta di trasporto dei campioni di urina entro 24 ore dalla raccolta. Trasferire al laboratorio all'interno di un contenitore di raccolta primario o nella provetta di trasporto, a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C. Conservare a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C, quindi analizzare con il test Aptima GC Assay i campioni di urina trattati entro 30 giorni dalla raccolta.

- b. Laddove fosse necessario un tempo di conservazione più lungo, congelare i campioni di urina nella provetta di trasporto dei campioni di urina entro 7 giorni dalla raccolta, a una temperatura compresa tra -20 °C e -70 °C, per consentire l'analisi fino a 12 mesi dopo la raccolta (vedere *Studi sulla stabilità dei campioni*).
3. Campioni per pap test raccolti in soluzione PreservCyt
 - a. I campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt e destinati ai test GC devono essere trattati per la citologia e/o trasferiti in una provetta di trasporto del campione entro 30 giorni dalla raccolta, se conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C (vedere *Studi sulla stabilità dei campioni*).
 - b. Se verrà impiegata la procedura ThinPrep di rimozione dell'aliquota, consultare il *ThinPrep Systems Processor Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del processore ThinPrep System) per le relative istruzioni. Trasferire 1 ml dell'aliquota rimossa in una provetta di trasporto del campione, attenendosi alle istruzioni del foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima e della soluzione di trasferimento Aptima.
 - c. Se dopo il trattamento il campione viene analizzato con il processore ThinPrep System, trattare il campione per Pap test raccolto in soluzione PreservCyt secondo le istruzioni contenute nel *ThinPrep Systems Processor Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del processore ThinPrep System) e nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento del campione Aptima e della soluzione di trasferimento Aptima. Trasferire 1 ml del liquido residuo nella fiala della soluzione PreservCyt in una provetta di trasporto del campione, attenendosi alle istruzioni del foglietto illustrativo dei kit di trasferimento dei campioni Aptima e della soluzione di trasferimento Aptima.
 - d. Una volta trasferito il campione per Pap test raccolto in soluzione PreservCyt nella provetta di trasporto del campione Aptima, il campione deve essere analizzato con il test Aptima GC entro 30 giorni, se conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C, oppure entro 14 giorni, se conservato a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C. Se occorre conservare il campione più a lungo, congelarlo entro 7 giorni dal trasferimento nella provetta di trasporto del campione Aptima, a una temperatura compresa tra -20 °C e -70 °C, per consentire l'analisi fino a 12 mesi dopo il trasporto (consultare la sezione *Studi sulla stabilità dei campioni*).

C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi

1. I campioni analizzati devono essere conservati su una rastrelliera, in posizione verticale.
2. Coprire le provette di trasporto dei campioni con una barriera nuova e pulita di pellicola di plastica o alluminio.
3. Se i campioni dosati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi penetrabili e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili sulle provette di trasporto del campione. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate. Prima di rimuovere i tappi dalle provette di campioni precedentemente analizzati che sono state richiuse, occorre sottoporre a centrifuga le provette di trasporto dei campioni per 5 minuti a una forza centrifuga relativa (RCF) di 420 per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta.

Evitare schizzi e contaminazione crociata.

Nota: la spedizione dei campioni deve essere effettuata in conformità ai regolamenti applicabili relativi al trasporto nazionale e internazionale.

Panther System

Di seguito sono elencati i reagenti del test Aptima GC Assay per il Panther System. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo identificativo.

Reagenti e materiali forniti

Kit per test Aptima Neisseria gonorrhoeae Assay, 100 test (2 confezioni e 1 kit dei controlli)
(N. n. 302927)

Scatola refrigerata Test Aptima Neisseria gonorrhoeae Assay (scatola 1 di 2)
(alla consegna, conservare a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
A	Reagente di amplificazione <i>Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente strutturante.</i>	1 flacone
E	Reagente enzimatico <i>Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di reagente strutturante.</i>	1 flacone
P	Reagente sonda <i>Sonde di DNA chemiluminescente non infettivo liofilizzate in soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 flacone
TCR-B	Reagente di cattura del target B <i>Acidi nucleici non infettivi in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 0,30 ml

Scatola a temperatura ambiente Test Aptima Neisseria gonorrhoeae Assay (scatola 2 di 2)
(alla consegna, conservare a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
AR	Soluzione di ricostituzione e amplificazione <i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>	1 x 11,9 ml
ER	Soluzione di ricostituzione enzimatica <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 x 6,3 ml
PR	Soluzione di ricostituzione sonda <i>Soluzione tamponata con succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 15,2 ml
S	Reagente di selezione <i>600 mM di soluzione tampone borato contenente tensioattivo.</i>	1 x 43,0 ml
TCR	Reagente di cattura del target <i>Soluzione tamponata contenente fase solida e oligomeri di cattura.</i>	1 x 26,0 ml
	Collari di ricostituzione	3
	Foglio dei codici a barre dei lotti master	1 foglio

Kit controlli Aptima
(alla consegna, conservare a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
PGC/NCT	Controllo positivo, GC/Controllo negativo, CT <i>Acido nucleico di GC non infettivo in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente. Ciascun campione da 400 µl contiene l'equivalente stimato di rRNA di 50 cellule di GC (250 fg/test*).</i>	5 x 1,7 ml
PCT/NGC	Controllo positivo, CT/Controllo negativo, GC <i>Acido nucleico di CT non infettivo in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente. Ogni campione da 400 µl contiene l'equivalente stimato di rRNA pari a 1 IFU CT (5 fg/test*).</i>	5 x 1,7 ml

*Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ciascun organismo.

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

	<u>N. cat.</u>
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Smaltimento continuo di liquidi e rifiuti Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit di liquidi per test Aptima Assay <i>(Soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente dell'olio Aptima)</i>	303014 (1000 test)
Aptima Auto Detect Kit	303013 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore di rifiuti Panther	504405
o Kit sessione analitica Panther <i>contiene unità multiprovetta (MTU), sacchetti di scarico, coperchi del contenitore di scarico, liquidi del test e reagenti Auto Detect</i>	303096 (5000 test)
Puntali, 1.000 µl, con filtro, conduttivi, rilevatori di liquido e monouso <i>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni geografiche. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche della regione geografica</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Kit di trasporto dei campioni Aptima <i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>	301154C
Kit di trasporto dei campioni Aptima - stampabile per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt	PRD-05110
Kit di raccolta dei campioni di tampone Aptima Multitest	PRD-03546
Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tampone uretrali maschili ed endocervicali	301041
Kit di raccolta dei campioni di urina Aptima per campioni di urina maschile e femminile	301040

Provette di trasporto dei campioni di urina Aptima per campioni di urina maschile e femminile	105575
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 8,25% (0,7 M – 1,16 M)	—
Guanti monouso	—
Tappi penetrabili Aptima	105668
Tappi non penetrabili di ricambio	103036A
Tappi di riserva per i kit da 100 test	—
<i>Soluzioni di ricostituzione dei reagenti sonda, enzimatico e di amplificazione</i>	<i>CL0041 (100 tappi)</i>
<i>Reagente di selezione e TCR</i>	<i>501604 (100 tappi)</i>

Materiali opzionali

	<u>N. cat.</u>
Kit controlli Aptima	301110
Potenziatore di candeggina per pulizia Hologic <i>per la pulizia ordinaria di superfici e attrezzature</i>	302101
Agitatore oscillante per provette	—
Panni antistatici	—
Teli da banco plastificati	—

Procedura di analisi del Panther System

Nota: per ulteriori informazioni sulla procedura del Panther System, consultare il Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System.

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati i reagenti. Passare sulle superfici di lavoro e sui pipettatori una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5%-3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Lasciare la candeggina a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati i reagenti con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
2. Pulire una superficie di lavoro separata su cui preparare i campioni. Utilizzare la procedura descritta in precedenza (passaggio A.1).
3. Pulire eventuali pipettatori. Utilizzare la procedura di pulizia descritta in precedenza (passaggio A.1).

B. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

Nota: eseguire la ricostituzione dei reagenti prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Panther System.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
 - a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di collegare il collare di ricostituzione, assicurarsi che le etichette della soluzione di ricostituzione e del reagente siano dello stesso colore.

- b. Controllare i numeri di lotto sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
- c. Aprire la fiala di vetro del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala di vetro (Figura 1, Passaggio 1).
- d. Aprire la bottiglia di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
- e. Tenendo il flacone della soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nel flacone della soluzione di ricostituzione (Figura 1, Passaggio 2).
- f. Capovolgere lentamente la bottiglia con il flacone collegato. Lasciare defluire la soluzione dal flacone della soluzione di ricostituzione nella fiala di vetro (Figura 1, Passaggio 3).
- g. Agitare roteando con attenzione la soluzione nel flacone per miscelarla. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 1, Passaggio 4).
- h. Attendere che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere nuovamente i due flaconi assemblati, inclinandoli con un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, Passaggio 5). Lasciare che tutto il liquido rifluisca nel flacone della soluzione di ricostituzione.
- i. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Passaggio 6).
- j. Riposizionare il tappo sul flacone della soluzione di ricostituzione. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, Passaggio 7).
- k. Smaltire il collare e la fiala (Figura 1, Passaggio 8).

Opzione: è consentita un'ulteriore miscelazione dei reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda posizionando le bottiglie di plastica tappate su un agitatore oscillante per provette impostato a una velocità moderata e inclinato per un minimo di 5 minuti. Assicurarsi che i reagenti siano accuratamente miscelati.

Avvertenza: evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento del livello di liquido nel Panther system.

Avvertenza: per ottenere risultati accurati del test, è necessaria una miscelazione adeguata dei reagenti.

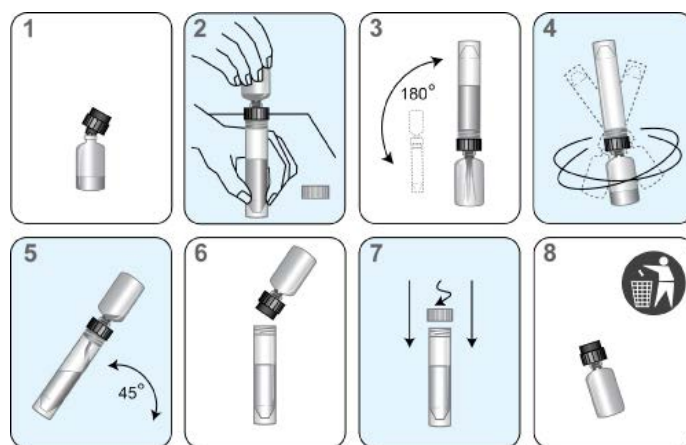


Figura 1. Procedimento di ricostituzione del Panther System

2. Preparare il reagente di cattura del target pronto all'[APOS]uso (wTCR)
 - a. Accoppiare i giusti flaconi di TCR e TCR-B.
 - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
 - c. Aprire il flacone di TCR e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Aprire il flacone di TCR-B e versarne l'intero contenuto nel flacone di TCR. È normale che nel flacone di TCR-B resti una piccola quantità di liquido.
 - e. Chiudere con il tappo il flacone di TCR e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo passaggio.
 - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
 - g. Smaltire il flacone e il tappo del TCR-B.
3. Preparazione del reagente di selezione
 - a. Controllare il numero di lotto sul flacone di reagente per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sul foglio dei codici a barre dei lotti master.
 - b. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

Nota: *Miscelare a fondo i reagenti di amplificazione, enzimatico, sonda e di selezione (Selection) capovolgendo delicatamente i flaconi prima di caricarli nel sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.*

C. Preparazione di reagenti precedentemente ricostituiti

1. I reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C) prima di iniziare il test.
Opzione: *I flaconi di plastica con tappo dei reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda ricostituiti possono essere posizionati su un agitatore oscillante per provette impostato a velocità moderata e inclinato fino a che i reagenti raggiungono la temperatura ambiente e sono accuratamente miscelati.*
2. Se il reagente sonda ricostituito contiene precipitato che non rientra in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare il flacone tappato a una temperatura che non superi i 62 °C per 1 o 2 minuti. Dopo questo procedimento di riscaldamento, il reagente sonda può essere usato anche se resta del precipitato residuo. Prima di caricarlo sul sistema, miscelare il reagente sonda capovolgendolo, facendo attenzione a non produrre schiuma.
3. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.
4. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi rabboccati.
Avvertenza: *per ottenere risultati accurati del test, è necessaria una miscelazione adeguata dei reagenti.*

D. Manipolazione dei campioni biologici

1. Prima del trattamento, lasciare che i controlli e i campioni raggiungano la temperatura ambiente.
2. Non miscelare i campioni con vortex.
3. Verificare visivamente che ciascuna provetta del campione soddisfi almeno uno dei seguenti criteri:
 - a. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima blu in una provetta di trasporto dei campioni di tampone unisex.

- b. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima rosa in una provetta di trasporto dei campioni di tampone vaginali o multitest.
 - c. Un volume finale di urina compreso tra le linee nere di riempimento di una provetta di trasporto dei campioni di urina.
 - d. L'assenza di un tampone nella provetta di trasporto del campione Aptima per campioni per pap test raccolti nella soluzione PreservCyt.
4. Ispezionare le provette dei campioni biologici prima di caricarle sulla rastrelliera.
- a. Se una provetta del campione contiene bolle nello spazio tra il liquido e il tappo, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per eliminare le bolle.
 - b. Se una provetta del campione presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato quando sono state seguite le istruzioni per la raccolta, centrifugare la provetta per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non sia presente liquido nel tappo.
 - c. Se il livello del liquido in una provetta di un campione di urina non rientra fra le due righe indicatrici nere dell'etichetta, il campione deve essere rifiutato. Non forare una provetta troppo piena.
 - d. Se una provetta del campione di urina contiene precipitato, riscaldare il campione a 37 °C per un massimo di 5 minuti. Nel caso in cui il precipitato non rientri in soluzione, accertarsi visivamente che il precipitato non impedisca l'erogazione del campione.

Nota: la mancata osservanza dei Procedimenti 4a - c potrebbe determinare un versamento di liquido dal tappo della provetta del campione.

Nota: da ciascuna provetta dei campioni possono essere analizzate fino a 4 aliquote separate. I tentativi di pipettare più di 4 aliquote dalla provetta dei campioni possono causare errori di volume insufficiente.

E. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni fornite nel *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System* e in *Note procedurali*. Accertarsi che vengano utilizzate rastrelliere per reagenti e adattatori per TCR di dimensioni appropriate.
2. Caricare i campioni.

Note procedurali

A. Controlli

1. Perché il software del test Aptima funzioni correttamente con il Panther System, è necessaria una coppia di controlli. Le provette del controllo positivo, CT/controllo negativo, GC e del controllo positivo, GC/controllo negativo, CT possono essere caricate in qualsiasi posizione della rastrelliera o in qualsiasi scomparto campioni del Panther System. Il pipettaggio dei campioni del paziente inizia dopo aver soddisfatto una delle seguenti due condizioni:
 - a. Una coppia di controlli è in fase di trattamento da parte del sistema.
 - b. I risultati validi dei controlli sono stati registrati nel sistema.
2. Dopo che le provette dei controlli saranno state pipettate e sottoposte a trattamento per uno specifico kit di reagenti, i campioni del paziente potranno essere trattati con il kit di reagenti del test associato entro un intervallo massimo di 24 ore **tranne nel caso in cui:**

- a. I risultati dei controlli siano non validi.
 - b. Il kit di reagenti del test associato viene rimosso dal sistema.
 - c. Il kit di reagenti del test associato abbia superato i limiti di stabilità.
3. Ciascuna provetta di controllo Aptima può essere analizzata un'unica volta. I tentativi di pipettare più di una volta dalla provetta possono causare errori di trattamento.

B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende un range di temperatura da 15 a 30 °C.

C. Talco dei guanti

Come in qualsiasi sistema di reazione, il talco eccessivo in alcuni guanti può causare la contaminazione di provette aperte. Si consigliano guanti privi di talco.

D. Protocollo del laboratorio per il monitoraggio della contaminazione per il sistema Panther

Vi sono molti fattori specifici per ciascun laboratorio che possono contribuire alla contaminazione, fra cui il volume di analisi, il flusso di lavoro, la prevalenza delle malattie e varie altre attività di laboratorio. Questi fattori vanno tenuti in considerazione quando si stabilisce la frequenza del monitoraggio della contaminazione. Gli intervalli relativi al monitoraggio della contaminazione devono essere stabiliti in base alle pratiche e alle procedure di ciascun laboratorio.

Per monitorare la contaminazione del laboratorio, può essere effettuata la seguente procedura utilizzando il kit di raccolta dei campioni biologici di tampone unisex Aptima per campioni di tamponi endocervicali e uretrali maschili:

1. Etichettare le provette di trasporto dei tamponi con i numeri corrispondenti alle aree da analizzare.
2. Rimuovere il tampone di raccolta del campione (tampone su bastoncino blu con stampa verde) dalla confezione, bagnare il tampone nel terreno di trasporto del campione (STM) Aptima e passare il tampone sull'area designata con un movimento circolare.
3. Inserire immediatamente il tampone nella provetta di trasporto.
4. Spezzare con cautela il bastoncino del tampone in corrispondenza della linea indicatrice, facendo attenzione a evitare di schizzarne il contenuto.
5. Rimettere saldamente il tappo sulla provetta di trasporto del tampone.
6. Ripetere i procedimenti da 2 a 5 per ciascuna area per la quale va eseguito un tampone.
7. Analizzare i campioni con il test Aptima GC Assay sul Panther System.
8. Se uno dei campioni produce un risultato positivo, è necessario procedere a indagini più approfondite.

Se i risultati sono GC-positivi o dubbi, consultare la sezione *Interpretazione del test – CQ/Risultati relativi ai pazienti*. Per ulteriori informazioni sul monitoraggio della contaminazione specifica del Panther System, contattare l'assistenza tecnica Hologic.

Interpretazione del test – CQ/Risultati relativi ai pazienti

A. Interpretazione del test

I risultati dell'analisi del test vengono interpretati automaticamente dal software del test Aptima usando il protocollo GC. Un risultato dell'analisi può essere negativo, dubbio, positivo o non valido, secondo quanto determinato in base alle RLU totali ricavate nel procedimento di rilevamento (vedere sotto). Un risultato dell'analisi può essere non valido a causa di valori RLU che non rientrano negli intervalli normali attesi. In caso di risultati dubbi o non validi del test iniziale, è necessario ripetere il test.

Interpretazione del test	RLU totali (x1.000)
Negativo	Da 0* a < 50
Dubbio	Da 50 a < 100
Positivo con RLU basse ^{1,2}	Da 100 < 2.000
Positivo ¹	Da 2.000 < 12.000
Non valido	0* oppure > 12.000

*La presenza di un risultato con RLU pari a zero (0 x 1000) nel referto della seduta indica un valore tra zero e 999 RLU. Valori di RLU inferiori a 690 sul Panther System saranno riportati come non validi.

¹Per la distribuzione dei risultati relativi alla RLU, consultare la Tabella 3. Il valore delle RLU non è indicativo del livello degli organismi nel campione.

²Nell'intervallo basso positivo, i dati suggeriscono che i risultati positivi debbano essere interpretati con cautela, tenendo presente che la possibilità di falsi positivi potrebbe essere più elevata rispetto ai veri positivi.

B. Risultati di controllo della qualità e accettabilità

Il controllo negativo per GC, etichettato come "CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC" e il controllo positivo per GC, etichettato come "CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT" fungono da controlli per i procedimenti di cattura e amplificazione del target, e rilevamento del test. Secondo le linee guida o i requisiti dei regolamenti locali, statali e/o federali o delle organizzazioni certificanti, possono essere inclusi ulteriori controlli per la lisi cellulare e la stabilizzazione dell'RNA. Il controllo positivo per GC, etichettato come "CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT" contiene rRNA di GC non infettivo. Se lo si desidera, i controlli aggiuntivi possono essere ordinati sotto forma di kit. La corretta preparazione dei campioni viene confermata visivamente dalla presenza di un unico tampone di raccolta Aptima in una provetta di trasporto dei campioni, da un volume finale di urina compreso tra le righe nere di riempimento di una provetta di trasporto del campione di urina o dall'assenza di un tampone in una provetta di trasferimento dei campioni Aptima per campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt.

I controlli positivi devono produrre i seguenti risultati del test:

Controllo	RLU totali (x1.000)	Risultato GC
Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC	0* e < 50	Negativo
Controllo positivo, GC / Controllo negativo, CT	≥ 100 e < 12.000	Positivo

*La presenza di un risultato con RLU pari a zero (0 x 1000) nel referto della seduta indica un valore tra zero e 999 RLU. Valori di RLU inferiori a 690 sul Panther System saranno riportati come non validi.

1. Il software del test Aptima Assay valuta automaticamente i controlli rispetto ai criteri indicati sopra e referta lo stato della sessione analitica come PASS (superata) se i criteri di controllo della sessione sono soddisfatti, e come FAIL (non riuscita) se i criteri di controllo della sessione non vengono soddisfatti.

2. Se il Run Status (Stato sessione) è FAIL (non riuscita), tutti i risultati dell'analisi nella stessa sessione sono non validi e non vanno refertati.
3. Ciascun laboratorio deve implementare le adeguate procedure di controllo per soddisfare i requisiti locali.

Nota: *contattare l'assistenza tecnica Hologic per ottenere assistenza per controlli fuori intervallo.*

4. I controlli negativi potrebbero non essere efficaci nel monitoraggio di contaminazione crociata casuale. Consultare la sezione *Studi sulla contaminazione crociata per il Panther System* per i risultati di uno studio sulla contaminazione crociata analitica ad alto target, svolto per dimostrare il controllo della contaminazione crociata sul Panther System.

C. Controllo della preparazione dei campioni (opzionale)

Il controllo negativo per GC, etichettato come "CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC" e il controllo positivo per GC, etichettato come "CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT" fungono da controlli per i procedimenti di cattura e amplificazione del target e rilevamento del test, e devono essere inclusi in ogni sessione analitica del test. Se lo si desidera, i controlli per la lisi cellulare e la stabilizzazione dell'RNA possono essere analizzati secondo i requisiti di appropriate organizzazioni di certificazione o le procedure dei singoli laboratori. Campioni noti positivi possono fungere da controlli quando vengono preparati e analizzati insieme a campioni non noti. I campioni usati come controlli della preparazione devono essere conservati, manipolati e analizzati secondo le istruzioni del foglietto illustrativo. I controlli della preparazione dei campioni vanno interpretati nello stesso modo descritto per i campioni di analisi dei pazienti. Consultare *Interpretazione del test – CQ/Risultati relativi ai pazienti* e/o *Risultati del test dei pazienti*.

D. Risultati del test dei pazienti

1. Se i controlli in una sessione analitica non danno i risultati attesi, i risultati del test sui campioni dei pazienti nella stessa sessione non devono essere refertati.
2. Risultati di campioni di tamponi, urina e pap test raccolti in soluzione PreservCyt. Consultare le *Note* di seguito.
 - a. Risultati iniziali

GC Pos*	Positivo per rRNA di GC.
GC Neg	Presunto negativo per rRNA di GC.
GC dubbio	Il campione deve essere rianalizzato.
Non valido	Il campione deve essere rianalizzato.

b. Risultati della ripetizione del test

GC Pos*	Positivo per rRNA di GC.
GC Neg	Presunto negativo per rRNA di GC.
GC dubbio	Indeterminato; è necessario raccogliere un nuovo campione.
Non valido	Indeterminato; è necessario raccogliere un nuovo campione.

*In questa categoria rientrano i risultati dei campioni positivi con RLU basse. Consultare la sezione *Interpretazione del test – CQ/Risultati relativi ai pazienti* sopra.

Note

- Il primo risultato valido, non dubbio, per ciascun analita è il risultato che va refertato.
- Si raccomanda l'attenta considerazione dei dati sulle prestazioni per l'interpretazione dei risultati del test Aptima GC relativi a individui asintomatici o a qualsiasi individuo in popolazioni a bassa prevalenza.
- Un risultato negativo non preclude la presenza di infezione da GC, perché i risultati dipendono da un'adeguata raccolta del campione, dall'assenza di inibitori e da una quantità sufficiente di rRNA da rilevare. I risultati dell'analisi possono essere influenzati da un'inadeguata raccolta dei campioni, da un'inadeguata conservazione dei campioni, da errori tecnici, scambi di campioni o livelli target inferiori al limite di rilevamento del test.
- L'analisi di un campione endocervicale si raccomanda per le pazienti di genere femminile che si sospettano all'analisi clinica affette da infezione da Clamidia o gonococcica. Se si raccolgono sia un tampone endocervicale sia un campione per pap test, quest'ultimo raccolto nella soluzione PreservCyt deve essere raccolto prima del campione di tampone endocervicale.

Limiti

- A. L'uso di questo esame va limitato al personale che è stato addestrato all'esecuzione della procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo può determinare risultati erranei.
- B. Gli effetti dell'uso di tamponi, di pulizia dell'area vaginale e di variabili nella raccolta dei campioni non sono stati valutati per il loro impatto sul rilevamento di GC.
- C. La presenza di muco nei campioni endocervicali non interferisce con il rilevamento di GC da parte del test Aptima GC Assay. Tuttavia, per garantire il corretto campionamento endocervicale, è necessario eliminare il muco in eccesso.
- D. La raccolta di campioni di urina, di tampone vaginale e di campioni per Pap test raccolti in PreservCyt non è concepita per sostituire gli esami cervicali e i campioni endocervicali per la diagnosi di infezioni dell'apparato urogenitale femminile. Le pazienti potrebbero essere affette da cervicite, uretrite, infezioni del tratto urinario o infezioni vaginali dovute ad altre cause o a infezioni concomitanti ad altri agenti patogeni.
- E. Il test Aptima GC Assay non è concepito per la valutazione di sospetto abuso sessuale o per altre indicazioni di tipo medico-legale.
- F. Risultati affidabili dipendono da un'appropriata raccolta dei campioni. Poiché il sistema di trasporto impiegato per questo test non permette la valutazione microscopica dell'adeguatezza dei campioni biologici, sono necessarie tecniche apposite di raccolta dei campioni. Consultare il foglietto illustrativo del kit di raccolta dei campioni Aptima corrispondente.
- G. Dal momento che l'acido nucleico potrebbe persistere anche dopo un'appropriata terapia antimicrobica, non è possibile determinare il successo o il fallimento terapeutici attraverso il test Aptima GC Assay.
- H. I risultati del test Aptima GC Assay vanno interpretati insieme agli altri dati di laboratorio e clinici a disposizione del medico.
- I. Un risultato negativo non preclude una possibile infezione perché i risultati dipendono da un'appropriata raccolta dei campioni. I risultati dell'analisi possono essere influenzati da un'inadeguata raccolta dei campioni, da errori tecnici, scambi di campioni o livelli target inferiori al limite di rilevamento del test.
- J. Il test Aptima GC Assay offre risultati qualitativi. Non può quindi essere tracciata una correlazione fra l'intensità di un segnale positivo del dosaggio e il numero di organismi in un campione.
- K. Per gli studi clinici su campioni di tampone vaginale, tampone endocervicale, tampone uretrale maschile e di urina, le prestazioni per il rilevamento di GC sono estrapolate da popolazioni ad alta prevalenza. I risultati positivi in popolazioni a bassa prevalenza vanno interpretati con cautela, tenendo presente che la probabilità di un falso positivo potrebbe essere più alta di quella di un vero positivo.
- L. Per lo studio clinico sui campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt, le prestazioni del test Aptima GC Assay per la rilevazione di GC derivano primariamente da popolazioni a bassa prevalenza. Ciononostante, risultati positivi in popolazioni a bassa prevalenza vanno interpretati con cautela, tenendo presente che la probabilità di un falso positivo potrebbe essere più alta di quella di un vero positivo.

- M. Le prestazioni del kit di trasferimento dei campioni Aptima non sono state valutate relativamente all'analisi dello stesso campione per pap test liquido in soluzione PreservCyt sia prima sia dopo il trattamento del campione per pap test ThinPrep.
- N. I campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt trattati con strumenti diversi dal processore ThinPrep 2000 non sono stati valutati per l'utilizzo con i test Aptima.
- O. I campioni biologici di tampone vaginale raccolti dalla paziente rappresentano un'opzione di screening per le pazienti quando non è altrimenti indicato un esame pelvico.
- P. L'applicazione del campione di tampone vaginale raccolto dalla paziente si limita a strutture sanitarie in cui sia disponibile il supporto/la consulenza per spiegare le precauzioni e le procedure da seguire.
- Q. Il test Aptima GC Assay non è stato convalidato per l'uso con campioni di tampone vaginale raccolti dalle pazienti a casa.
- R. Le prestazioni del test Aptima GC Assay non sono state valutate in soggetti di età inferiore ai 14 anni.
- S. Si sconsiglia l'analisi dei campioni di tampone uretrale prelevati da soggetti di sesso maschile asintomatici, a causa del basso valore predittivo di un risultato positivo osservato nell'ambito dello studio clinico.
- T. Le prestazioni del Panther System non sono state valutate ad altitudini superiori a 2000 m (6.561 piedi).
- U. Non vi sono prove di degradazione degli acidi nucleici in soluzione PreservCyt. Se un campione per Pap test raccolto in soluzione PreservCyt presenta quantità ridotte di materiale cellulare di GC, la distribuzione di tale materiale potrebbe risultare disomogenea. Inoltre, quando confrontato con il campionamento diretto con l'STM, il volume aggiuntivo di soluzione PreservCyt determina una maggiore diluizione del materiale campione. Questi fattori possono avere un impatto sulla capacità di rilevare piccoli numeri di organismi nel materiale raccolto. Se i risultati negativi derivanti dal campione non rispecchiassero l'impressione clinica, potrebbe essere necessario un nuovo campione.
- V. Ciascun cliente deve convalidare in modo indipendente un processo di trasferimento al LIS (Laboratory Information System/Sistema di informazioni del laboratorio).

Risultati degli studi clinici

Le caratteristiche delle prestazioni del test Aptima GC Assay sono state stabilite in tre studi clinici condotti nel Nord America. La prima indagine clinica ha stabilito la sensibilità, la specificità e i valori predittivi del test Aptima GC Assay usando campioni di tampone endocervicale, vaginale e dell'uretra maschile raccolti da medici, oltre a campioni di tampone vaginale e campioni di urina maschile e femminile raccolti dai pazienti. Durante la seconda indagine clinica sono stati stabiliti la sensibilità, la specificità e i valori predittivi del test Aptima GC Assay usando il terreno di trasporto PreservCyt (componente del ThinPrep 2000 System). I campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt sono stati anche analizzati con riferimento alla precisione del test Aptima GC Assay nell'ambito del laboratorio.

Le indagini cliniche iniziali, atte a stabilire la sensibilità, la specificità e i valori predittivi del test Aptima GC Assay, sono state portate a compimento su un sistema DTS® semi-automatizzato. Il test è stato quindi trasferito su un sistema Tigris® DTS completamente automatizzato (senza alcuna modifica della formulazione), ricorrendo a studi clinici di comparabilità. Infine, studi clinici comparativi sono stati impiegati per trasferire il test Aptima GC Assay dal sistema DTS Tigris al sistema correntemente in uso: il Panther System. È possibile mostrare nel presente documento i dati derivanti dagli studi iniziali con i sistemi DTS o DTS Tigris, allo scopo di sostenere la definizione delle prestazioni del test, nonostante l'uso corrente di questi sistemi non sia più supportato dal fabbricante.

Nella terza indagine clinica, le prestazioni cliniche del test Aptima GC Assay sono state valutate in soggetti maschili e femminili sessualmente attivi di almeno 14 anni di età con o senza sintomi di infezioni sessualmente trasmissibili. Questo studio ha valutato i campioni di tampone vaginale e di urina raccolti dai/dalle pazienti e analizzati utilizzando il Panther System.

Valori attesi

La positività di GC nelle popolazioni dei pazienti dipende da fattori di rischio quali età, stile di vita, presenza o assenza di sintomi e sensibilità del test utilizzato per il rilevamento dell'infezione. Un riepilogo della positività della malattia da GC nel Nord America, in base al tipo di campione e secondo quanto determinato dal test Aptima GC Assay sul sistema DTS è illustrato in Tabella 1a e Tabella 1b per due studi clinici. La Tabella 1c riassume la positività di *N. gonorrhoeae* per il test Aptima GC Assay sul the Panther System sulla base di un'ulteriore indagine clinica.

Tabella 1a: Positività di *N. gonorrhoeae* per centro clinico e complessiva come determinato dai risultati del test Aptima GC Assay sul sistema DTS.

Centro	% (N. positivi / N. analizzati)											
	MS		MU		FS		FU		PVS		CVS	
1	21,4	(54/252)	21,4	(54/252)	6,1	(14/229)	5,7	(13/230)	6,4	(14/219)	6,1	(14/230)
2	26,5	(93/351)	20,1	(71/354)	16,1	(32/199)	15,0	(30/200)	16,2	(32/198)	16,6	(33/199)
3	0,0	(0/4)	0,0	(0/4)	4,4	(5/114)	3,5	(4/113)	3,6	(4/111)	3,5	(4/113)
4	N/A		N/A		2,3	(6/266)	1,9	(5/270)	2,2	(6/267)	3,0	(8/269)
5	5,5	(11/200)	5,5	(11/200)	1,5	(3/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)
6	14,5	(44/304)	13,4	(41/305)	8,2	(24/294)	5,7	(17/296)	8,3	(24/290)	7,5	(22/295)
7	5,8	(12/207)	5,8	(12/207)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)
8	N/A		N/A		2,0	(1/49)	2,0	(1/49)	2,1	(1/48)	2,0	(1/51)
Tutti	16,2	(214/1.318)	14,3	(189/1.322)	5,9	(85/1.452)	4,9	(72/1.459)	5,8	(83/1.434)	5,8	(84/1.458)

SM = Tampone di uretra maschile; **MU** = Urina maschile; **FS** = Tampone endocervicale femminile; **FU** = Urina femminile; **PVS** = Tampone vaginale raccolto dalla paziente; **CVS** = Tampone vaginale raccolto da un medico; **N/A** = non disponibile.

Tabella 1b: Positività di *N. gonorrhoeae* per centro clinico e complessiva come determinato dai risultati del test Aptima GC Assay sul sistema DTS utilizzando campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt

Centro	% (N. positivi / N. analizzati)	
1	5,0	(5/100)
2	0,8	(1/124)
3	0,8	(4/475)
4	1,4	(4/287)
5	0,0	(0/297)
6	0,5	(2/364)
Tutti	1,0	(16/1.647)

Tabella 1c: Positività di *N. gonorrhoeae* determinata dai risultati del test Aptima GC Assay sul Panther System in campioni di tampone vaginale, urina femminile e urina maschile raccolti dai/dalle pazienti per centro clinico

Centro	% positività (N. positivi/N. analizzati con risultati non equivoci)		
	PVS	FU	MU
1	14,3 (3/21)	13,6 (3/22)	21,7 (38/175)
2	1,3 (5/383)	1,3 (5/385)	0,8 (3/373)
3	0 (0/75)	0 (0/74)	0 (0/61)
4	0 (0/5)	0 (0/5)	0 (0/13)
5	2,0 (5/254)	2,0 (5/250)	8,3 (34/409)
6	2,0 (10/494)	2,1 (10/484)	9,4 (29/307)
7	2,0 (5/246)	1,6 (4/245)	5,3 (12/225)
8	0 (0/95)	0 (0/97)	0 (0/32)
9	0,3 (1/313)	0 (0/261)	0 (0/218)
10	4,3 (11/255)	4,0 (10/253)	11,0 (10/91)
11	0 (0/96)	0 (0/91)	0 (0/54)
Tutti	1,8 (40/2237)	1,7 (37/2167)	6,4 (126/1958)

FU = Urina femminile; MU = Urina maschile; PVS = Tampone vaginale raccolto dalla paziente.

Valori predittivi positivi e negativi per i tassi di prevalenza ipotetici nel Nord America

I valori predittivi positivi e negativi stimati (VPP e VPN) per i diversi tassi di prevalenza ipotetici utilizzando il test Aptima GC Assay sul sistema DTS sono illustrati nella Tabella 2a. Questi calcoli sono basati sui tassi di prevalenza ipotetici e sulla sensibilità e specificità complessive desunte dallo stato di infezione dei pazienti. La sensibilità e la specificità complessive per il test Aptima GC Assay sul sistema DTS sono state rispettivamente del 97,6% e del 99,3% (Tabella 2a). I VPP e VPN effettivi per i campioni di tampone endocervicale, vaginale e di uretra maschile raccolti dal medico, di tampone vaginale raccolti dalla paziente e di urina maschile e femminile sono illustrati nella Tabella 6a per ogni centro clinico e nel complesso. Il VPP e il VPN effettivi per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt utilizzando il test Aptima GC Assay sul sistema DTS sono riportati nella Tabella Tabella 6b.

Tabella 2a: Valori predittivi positivi e negativi per i tassi di prevalenza ipotetici sul sistema DTS in Nord America

Tasso di prevalenza ipotetico (%)	Sensibilità (%)	Specificità (%)	VPP (%)	VPN (%)
1	97,6	99,3	58,7	100,0
2	97,6	99,3	74,1	100,0
5	97,6	99,3	88,1	99,9
10	97,6	99,3	94,0	99,7
15	97,6	99,3	96,1	99,6
20	97,6	99,3	97,2	99,4
25	97,6	99,3	97,9	99,2
30	97,6	99,3	98,4	99,0

Il VPP e il VPN stimati del test Aptima GC Assay sul Panther System rispetto a diversi tassi di prevalenza ipotetici sono illustrati per ciascun tipo di campione nella Tabella 2b. Per ciascun tipo di campione, il VPP e il VPN sono derivati da diversi tassi di prevalenza ipotetici utilizzando le stime sulla sensibilità e specificità complessive dello studio clinico multicentrico (consultare la Tabella 11).

Tabella 2b: Valori predittivi positivi e negativi per i tassi di prevalenza ipotetici sul Panther System in Nord America

Tipo di campione biologico		Prevalenza ipotetica						
		1%	2%	5%	10%	15%	20%	25%
PVS	VPP (%)	91,3	95,5	98,2	99,1	99,5	99,6	99,7
	VPN (%)	99,9	99,9	99,7	99,4	99,1	98,8	98,4
FU	VPP (%)	95,2	97,6	99,0	99,5	99,7	99,8	99,8
	VPN (%)	99,9	99,8	99,6	99,2	98,7	98,1	97,5
MU	VPP (%)	94,8	97,4	99,0	99,5	99,7	99,8	99,8
	VPN (%)	100	100	99,9	99,8	99,7	99,6	99,5

FU = Urina femminile; MU = Urina maschile; VPN = Valore predittivo negativo; VPP = Valore predittivo positivo; PVS = Tampone vaginale raccolto dalla paziente.

Distribuzione delle RLU per il test Aptima GC Assay sul sistema DTS

La Figura 2 illustra la distribuzione delle RLU per il Test Aptima GC Assay in relazione ai seguenti tipi di campioni analizzati nello studio clinico: per pazienti sintomatici, campioni di tampone endocervicale, vaginale e dell'uretra maschile raccolti dal medico e campioni di urina maschile e femminile raccolti dai/dalle pazienti; per pazienti asintomatici, campioni di tampone endocervicale e vaginale raccolti dal medico e campioni di tampone vaginale e di urina maschile e femminile raccolti dai/dalle pazienti. La Tabella 3 riepiloga la distribuzione delle RLU per i risultati positivi e negativi nel complesso, unitamente ai risultati falsi positivi e falsi negativi per i tipi di campioni in questione, in relazione allo stato di infezione dei/delle pazienti. Per quanto concerne determinati tipi di campioni, si registra una tendenza verso proporzioni crescenti di risultati veri positivi parallelamente all'aumento dei valori delle RLU.

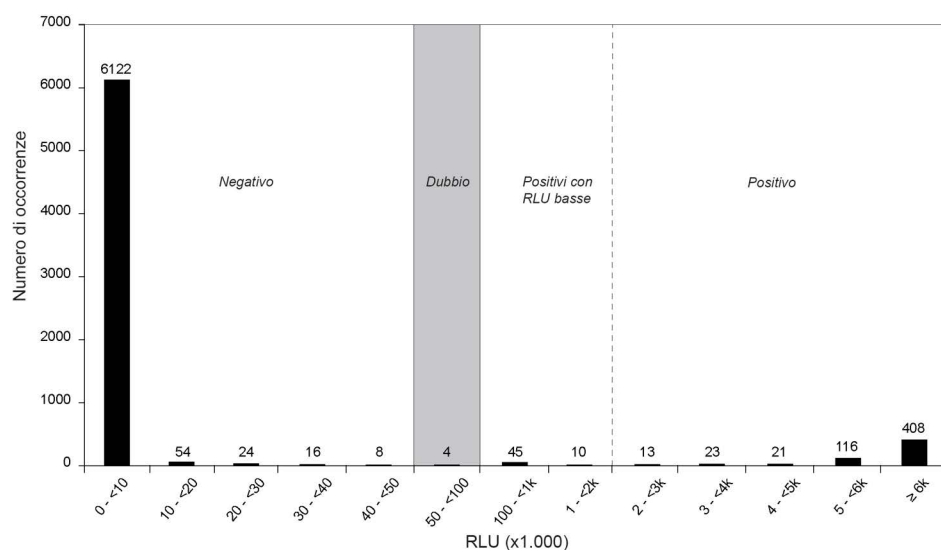


Figura 2. Frequenza di distribuzione delle RLU per il test Aptima GC Assay sul sistema DTS

Tabella 3: Distribuzione delle RLU per il test Aptima GC Assay sul sistema DTS

	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
Totale positivi	-	-	-	-	-	-	45	10	13	23	21	116	408
Totale falsi positivi	-	-	-	-	-	-	35	6	2	4	0	3	0
CVS	-	-	-	-	-	1	5	3	0	1	0	2	0
PVS	-	-	-	-	-	0	2	0	0	1	0	1	0
FS	-	-	-	-	-	2	12	1	0	0	0	0	0
MS	-	-	-	-	-	1	9	0	1	0	0	0	0
FU	-	-	-	-	-	0	2	0	0	1	0	0	0
MU	-	-	-	-	-	0	5	2	1	1	0	0	0
Totale negativi	6122	54	24	16	8	-	-	-	-	-	-	-	-
Totale falsi negativi	7	2	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-
CVS	2	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
PVS	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
FS	0	0	0	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
MS	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
FU	3	1	1	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-
MU	2	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

CVS = Tampone vaginale raccolto da un medico; **PVS** = Tampone vaginale raccolto dalla paziente, solo da soggetti asintomatici;
FS = Tampone endocervicale femminile; **SM** = Tampone uretrale maschile, solo da soggetti sintomatici; **FU** = Urina femminile;
MU = urina maschile.

La colonna grigia denota una zona dubbia.

Prestazioni cliniche del sistema DTS

Studio clinico sui campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile, di tampone vaginale e di urina

Campioni di tampone endocervicale, vaginale e uretrale maschile raccolti da medici, campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente e campioni di urina maschile e femminile sono stati raccolti da 2.787 soggetti sintomatici e asintomatici, maschili e femminili, frequentatori di cliniche per malattie a trasmissione sessuale, ginecologiche e per il controllo delle nascite in otto centri clinici geograficamente distinti del Nord America. I soggetti sono stati classificati come sintomatici laddove venivano riferiti sintomi quali leucorrea, disuria e dolore pelvico. I pazienti sono stati classificati come asintomatici se non riportavano sintomi. Dei 1.392 pazienti asintomatici iscritti allo studio, 2 avevano meno di 16 anni, 237 avevano un'età compresa tra 16 e 20 anni, 423 avevano un'età compresa tra 21 e 25 anni e 730 avevano più di 25 anni. Dei 1.395 pazienti sintomatici iscritti allo studio, 211 avevano un'età compresa tra 16 e 20 anni, 494 avevano un'età compresa tra 21 e 25 anni e 690 avevano più di 25 anni.

Da ciascuno dei 1.322 soggetti maschili idonei sono stati raccolti tre campioni. Cinque campioni sono stati raccolti invece da ciascuno dei 1.465 soggetti femminili idonei. Per i soggetti maschili sono stati raccolti due tamponi uretrali a caso, seguiti da un campione di urina. Per i soggetti femminili, è stato raccolto un campione di urina, seguito da un tampone vaginale raccolto dalla paziente, un tampone vaginale raccolto da un medico e due tamponi endocervicali randomizzati. I risultati GC del test Aptima GC Assay e del test Aptima Combo 2 Assay sono stati generati da due tamponi vaginali, un tampone endocervicale, un tampone uretrale maschile e un'aliquota di urina maschile e femminile. I rimanenti tampone endocervicale, tampone uretrale maschile e aliquota di urina maschile e femminile sono stati analizzati usando un altro NAAT disponibile in commercio. I campioni di tampone endocervicale e uretrale maschile e i campioni di urina femminile e maschile analizzati nel test Aptima Combo 2 Assay e nell'altro NAAT disponibile in commercio sono stati usati come NAAT di riferimento per determinare lo stato di infezione di ciascun soggetto. L'analisi dei campioni è stata eseguita al centro di iscrizione delle pazienti o presso un centro di analisi esterno.

Tutti i calcoli sulle prestazioni sono stati basati sul numero totale di risultati del test Aptima GC Assay relativi ai campioni di tampone endocervicale, vaginale e di uretra maschile raccolti dal medico, e ai campioni di urina maschile e femminile rispetto a un algoritmo dello stato di infezione dei pazienti per ciascun genere. Nell'algoritmo, la designazione di un soggetto come infetto o non infetto da GC è stata basata sui risultati dei campioni di tampone e di urina derivanti dal test Aptima Combo 2 Assay disponibile in commercio e dall'altro NAAT disponibile in commercio. I soggetti sono stati considerati infetti da GC se due dei quattro campioni di tampone e di urina avevano dato risultati positivi nel test Aptima Combo 2 Assay e nell'altro NAAT di riferimento (un campione positivo in ciascuna NAAT). I pazienti sono stati considerati non infetti se meno di due risultati dei NAAT di riferimento erano positivi. Non è stata usata alcuna coltura come analisi di riferimento.

Per calcolare la sensibilità e la specificità sono stati impiegati in totale 7.653 risultati del test Aptima GC Assay (mediante il sistema DTS). La sensibilità e la specificità per GC in base a genere, tipo di campione e stato sintomatico, secondo i casi, sono illustrate in Tabella 4. La Tabella 6a mostra la sensibilità, la specificità e i valori predittivi del test Aptima GC Assay, confrontati con lo stato di infezione del paziente per ciascun centro clinico e nel complesso. Le tabelle 7a-7e riepilogano il numero di risultati derivanti da soggetti sintomatici e asintomatici designati come infetti o non infetti da GC in base all'algoritmo dello stato di infezione del paziente.

Tra i 2.787 soggetti iscritti, 15 soggetti hanno presentato uno stato di infezione GC non noto. I pazienti sono stati designati con uno stato di infezione del paziente non noto se mancavano risultati che impedivano la determinazione conclusiva dello stato di infezione. I risultati relativi a questi soggetti non sono stati inclusi in alcun calcolo sulle prestazioni. Tra i 7.704 risultati del test Aptima GC Assay, 22 campioni (0,29%) hanno inizialmente prodotto risultati non validi o dubbi. Alla ripetizione dell'analisi, 4 tra questi campioni sono rimasti dubbi e sono stati esclusi dall'analisi. I rimanenti 18 campioni hanno prodotto risultati del test validi durante la ripetizione dell'analisi e sono stati inclusi nei calcoli delle prestazioni cliniche.

Tabella 4: sensibilità e specificità del test Aptima GC Assay rispetto allo stato di infezione dei pazienti in base allo stato sintomatico e nel complesso per tamponi di uretra maschile, urina maschile, tamponi endocervicali femminili, urina femminile, tamponi vaginali raccolti da pazienti asintomatiche e tamponi vaginali raccolti dal medico

Campione biologico	Stato sintomatico	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilità (IC 95%)	Specificità (IC 95%)	
Maschio	Tampone	Sintomatico	575	171	10 ^a	393	1	99,4 (96,8–100)	97,5 (95,5–98,8)
		Asintomatico	745	9	5 ^e	730	1	90,0 (55,5–99,7)	99,3 (98,4–99,8)
	Urina	Sintomatico	576	171	4 ^b	400	1	99,4 (96,8–100)	99,0 (97,5–99,7)
		Asintomatico	745	9	5 ^e	730	1	90,0 (55,5–99,7)	99,3 (98,4–99,8)
Tutti		1321	180	9 ^d	1130	2	98,9 (96,1–99,9)	99,2 (98,5–99,6)	
Femmina	Tampone	Sintomatico	805	52	8 ^e	744	1	98,1 (89,9–100)	98,9 (97,9–99,5)
		Asintomatico	635	20	5 ^f	609	1	95,2 (76,2–99,9)	99,2 (98,1–99,7)
		Tutti	1440	72	13 ^g	1353	2	97,3 (90,6–99,7)	99,0 (98,4–99,5)
	Urina	Sintomatico	810	48	2 ^h	755	5	90,6 (79,3–96,9)	99,7 (99,0–100)
		Asintomatico	639	21	1 ⁱ	616	1	95,5 (77,2–99,9)	99,8 (99,1–100)
		Tutti	1449	69	3 ^j	1371	6	92,0 (83,4–97,0)	99,8 (99,4–100)
Raccolto dalla paziente	Vaginale Tampone	Asintomatico	629	21	4 ^k	604	0	100 (83,9–100)	99,3 (98,3–99,8)
Raccolto da un medico	Vaginale Tampone	Sintomatico	809	52	7 ^m	749	1	98,1 (89,9–100)	99,1 (98,1–99,6)
		Asintomatico	637	21	4 ⁿ	611	1	95,5 (77,2–99,9)	99,3 (98,3–99,8)
		Tutti	1446	73	11 ^o	1360	2	97,3 (90,7–99,7)	99,2 (98,6–99,6)

TP = Vero positivo; FP = Falso positivo; TN = Vero negativo; FN = Falso negativo; IC = Intervallo di confidenza.

Risultati GC per test Aptima Combo 2 Assay: N. risultati positivi / N. campioni analizzati ^a2/10; ^b1/4; ^c1/5; ^d2/9; ^e5/8; ^f2/5; ^g7/13; ^h1/2; ⁱ1/1; ^j2/3; ^k3/4; ^l8/11; ^m6/7; ⁿ3/4; ^o9/11.

Studio clinico relativo ai campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt

Uno studio clinico prospettivo multicentrico è stato condotto per valutare l'uso del terreno di trasporto PreservCyt come terreno alternativo per i campioni ginecologici, per il rilevamento di *N. gonorrhoeae* da parte del test Aptima GC Assay. Milleseicentoquarantasette (1.647) pazienti sintomatiche e asintomatiche, frequentatrici di cliniche ginecologiche, per il controllo delle nascite, per la salute pubblica, per donne e per malattie a trasmissione sessuale sono state valutate nello studio clinico. Di queste, 1.288 erano pazienti asintomatiche e 359 pazienti sintomatiche (Tabella 7e). Le pazienti erano state iscritte da centri con prevalenza di GC compresa tra 0,0% e 5,0% (Tabella 6b).

Da ogni paziente idonea sono stati raccolti due campioni: un campione per Pap test raccolto in soluzione PreservCyt e un campione di tampone endocervicale. I campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt sono stati prelevati mediante l'uso di una spatola ginecologica/spazzolino per citologia o di un dispositivo di raccolta a forma di scopa per il

prelievo endocervicale. La Tabella 5a illustra la distribuzione dei dispositivi di campionamento cervicale secondo il centro di raccolta dei campioni e complessiva.

I campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt sono stati trattati secondo le istruzioni contenute nel Manuale per l'operatore del processore ThinPrep 2000 e nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima. Dopo aver trattato il campione per Pap test raccolto in soluzione PreservCyt con il Processore ThinPrep 2000, il campione è stato trasferito nel Kit di trasferimento dei campioni Aptima per l'analisi con il test Aptima GC Assay.

La sensibilità e la specificità del test Aptima GC Assay per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt sono state calcolate confrontando i risultati rispetto allo stato di infezione delle pazienti. Nell'algoritmo erano stati inclusi i risultati relativi al test Aptima Combo 2 Assay e al test Aptima GC Assay per i campioni di tampone endocervicale. Per stabilire lo stato di infezione delle pazienti, entrambi i NAAT di riferimento dovevano essere positivi. Per ritenere una paziente non infetta, almeno una delle due NAAT di riferimento doveva essere negativa. L'unico risultato dubbio ottenuto da un NAAT di riferimento è stato giudicato contraddittorio rispetto all'analisi investigativa finalizzata al calcolo delle prestazioni, il che ha portato a classificare la paziente come non infetta (n=1). La Tabella 7e riassume la frequenza degli esiti delle analisi per i campioni di tampone endocervicale analizzati con il test Aptima Combo 2 Assay e con il test Aptima GC Assay.

La Tabella 5b mostra le sensibilità e le specificità del test Aptima GC Assay in relazione allo stato sintomatico e nel complesso. La sensibilità complessiva è risultata del 92,3% (12/13). Nelle pazienti sintomatiche e asintomatiche, le sensibilità sono state rispettivamente del 100% (7/7) e dell'83,3% (5/6). La specificità complessiva è risultata del 99,8% (1630/1634). Nelle pazienti sintomatiche e asintomatiche, la specificità è stata rispettivamente del 99,4% (350/352) e del 99,8% (1280/1282).

La Tabella 6b mostra le sensibilità e le specificità del test Aptima GC Assay in relazione al centro di raccolta dei campioni e nel complesso. La sensibilità è risultata compresa tra il 80,0% e il 100%. La specificità è risultata compresa tra il 99,0% e il 100%.

Tabella 5a: Distribuzione dei dispositivi di campionamento cervicale usati per i campioni per pap test raccolti nella soluzione PreservCyt

Dispositivo di campionamento cervicale usato	Centro clinico di raccolta						Totale
	1	2	3	4	5	6	
Spatola/cytobrush	0	124	475	287	57	364	1307
Spazzolino per prelievo endocervicale	100	0	0	0	240	0	340

Tabella 5b: Sensibilità e specificità del test Aptima GC Assay con i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt rispetto allo stato di infezione pazienti per stato sintomatico e nel complesso

Sintomo	Risultato soluzione PreservCyt con Aptima GC	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilità (%) (CI al 95%)	Specificità (%) (CI al 95%)
Sintomatico	Positivo	7	0	0	2	100 (7/7) (59,0–100)	99,4 (350/352) (98,0–99,9)
	Negativo	0	0	0	350		
	Totale	7	0	0	352		
Asintomatico	Positivo	5	0	1 ¹	1	83,3 (5/6) (35,9–99,6)	99,8 (1280/1282) (99,4–100)
	Negativo	1	0	5	1275		
	Totale	6	0	6	1276		
Tutti	Positivo	12	0	1	3	92,3 (12/13) (64,0–99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4–99,9)
	Negativo	1	0	5	1625		
	Totale	13	0	6	1628		

IC = intervallo di confidenza.

+/+ = Risultato positivo per il tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay / Risultato positivo per il tampone endocervicale nel test Aptima GC Assay.

+/- = Risultato positivo per il tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay / Risultato negativo per il tampone endocervicale nel test Aptima GC Assay.

-/+ = Risultato negativo per il tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay / Risultato positivo per il tampone endocervicale nel test Aptima GC Assay.

-/- = Risultato negativo per il tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay / Risultato negativo del tampone endocervicale nel test Aptima GC Assay.

¹Un campione ha prodotto un risultato contraddittorio: risultato dubbio del tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay/risultato positivo del tampone endocervicale nel test Aptima GC Assay.

Tabella 6a: Sensibilità, specificità e valori predittivi del test Aptima GC Assay in relazione allo stato di infezione pazienti in base al centro clinico e nel complesso per tamponi di uretra maschile, urina maschile, tamponi endocervicali femminili, urina femminile, tamponi vaginali raccolti da pazienti asintomatiche e tamponi vaginali raccolti dal medico

Campione biologico	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Sensibilità (IC 95%)	Specificità (IC 95%)	VPP (%)	VPN (%)
Tamponi	1	145	49	0	96	0	33,8	100 (92,7–100)	100 (96,2–100)	100	100
	2	177	66	8	102	1	37,9	98,5 (92,0–100)	92,7 (86,2–96,8)	89,2	99,0
	3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	5	49	7	1	41	0	14,3	100 (59,0–100)	97,6 (87,4–99,9)	87,5	100
	6	150	37	1	112	0	24,7	100 (90,5–100)	99,1 (95,2–100)	97,4	100
	7	54	12	0	42	0	22,2	100 (73,5–100)	100 (91,6–100)	100	100
	8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	Tutti	575	171	10	393	1	29,9	99,4 (96,8–100)	97,5 (95,5–98,8)	94,5	99,7
Maschio	1	252	53	1	198	0	21,0	100 (93,3–100)	99,5 (97,2–100)	98,1	100
	2	353	68	3	280	2	19,8	97,1 (90,1–99,7)	98,9 (96,9–99,8)	95,8	99,3
	3	4	0	0	4	0	0,0	N/A	100 (39,8–100)	N/A	100
	4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	5	200	8	3	189	0	4,0	100 (63,1–100)	98,4 (95,5–99,7)	72,7	100
	6	305	39	2	264	0	12,8	100 (91,0–100)	99,2 (97,3–99,9)	95,1	100
	7	207	12	0	195	0	5,8	100 (73,5–100)	100 (98,1–100)	100	100
	8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	Tutti	1321	180	9	1130	2	13,8	98,9 (96,1–99,9)	99,2 (98,5–99,6)	95,2	99,8
Urina	1	252	53	1	198	0	21,0	100 (93,3–100)	99,5 (97,2–100)	98,1	100
	2	353	68	3	280	2	19,8	97,1 (90,1–99,7)	98,9 (96,9–99,8)	95,8	99,3
	3	4	0	0	4	0	0,0	N/A	100 (39,8–100)	N/A	100
	4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	5	200	8	3	189	0	4,0	100 (63,1–100)	98,4 (95,5–99,7)	72,7	100
	6	305	39	2	264	0	12,8	100 (91,0–100)	99,2 (97,3–99,9)	95,1	100
	7	207	12	0	195	0	5,8	100 (73,5–100)	100 (98,1–100)	100	100
	8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	Tutti	1321	180	9	1130	2	13,8	98,9 (96,1–99,9)	99,2 (98,5–99,6)	95,2	99,8

Tabella 6a: Sensibilità, specificità e valori predittivi del test Aptima GC Assay in relazione allo stato di infezione pazienti in base al centro clinico e nel complesso per tamponi di uretra maschile, urina maschile, tamponi endocervicali femminili, urina femminile, tamponi vaginali raccolti da pazienti asintomatiche e tamponi vaginali raccolti dal medico (continua)

Campione biologico		Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Sensibilità (IC 95%)	Specificità (IC 95%)	VPP (%)	VPN (%)		
Tampone	1	226	12	2	212	0	5,3	100	(73,5–100)	99,1	(96,7–99,9)	85,7	100	
	2	197	29	3	164	1	15,2	96,7	(82,8–99,9)	98,2	(94,8–99,6)	90,6	99,4	
	3	114	4	1	109	0	3,5	100	(39,8–100)	99,1	(95,0–100)	80,0	100	
	4	260	5	1	254	0	1,9	100	(47,8–100)	99,6	(97,8–100)	83,3	100	
	5	199	2	1	196	0	1,0	100	(15,8–100)	99,5	(97,2–100)	66,7	100	
	6	294	19	5	269	1	6,8	95,0	(75,1–99,9)	98,2	(95,8–99,4)	79,2	99,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0		N/A	100	(96,4–100)	N/A	100	
	8	48	1	0	47	0	2,1	100	(2,5–100)	100	(92,5–100)	100	100	
	Tutti	1440	72	13	1353	2	5,1	97,3	(90,6–99,7)	99,0	(98,4–99,5)	84,7	99,9	
Femmina	1	227	11	2	213	1	5,3	91,7	(61,5–99,8)	99,1	(96,7–99,9)	84,6	99,5	
	2	198	30	0	167	1	15,7	96,8	(83,3–99,9)	100	(97,8–100)	100	99,4	
	3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8–100)	100	(96,7–100)	100	100	
	4	265	5	0	260	0	1,9	100	(47,8–100)	100	(98,6–100)	100	100	
	5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8–100)	100	(98,1–100)	100	100	
	6	296	16	1	275	4	6,8	80,0	(56,3–94,3)	99,6	(98,0–100)	94,1	98,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0		N/A	100	(96,4–100)	N/A	100	
	8	49	1	0	48	0	2,0	100	(2,5–100)	100	(92,6–100)	100	100	
	Tutti	1449	69	3	1371	6	5,2	92,0	(83,4–97,0)	99,8	(99,4–100)	95,8	99,6	
Raccolto dalla paziente	Tampone vaginale (asintomatico)	1	70	5	1	64	0	7,1	100	(47,8–100)	98,5	(91,7–100)	83,3	100
	2	46	7	1	38	0	15,2	100	(59,0–100)	97,4	(86,5–99,9)	87,5	100	
	3	45	2	0	43	0	4,4	100	(15,8–100)	100	(91,8–100)	100	100	
	4	152	1	0	151	0	0,7	100	(2,5–100)	100	(97,6–100)	100	100	
	5	130	1	0	129	0	0,8	100	(2,5–100)	100	(97,2–100)	100	100	
	6	75	5	2	68	0	6,7	100	(47,8–100)	97,1	(90,1–99,7)	71,4	100	
	7	68	0	0	68	0	0,0		N/A	100	(94,7–100)	N/A	100	
	8	43	0	0	43	0	0,0		N/A	100	(91,8–100)	N/A	100	
	Tutti	629	21	4	604	0	3,3	100	(83,9–100)	99,3	(98,3–99,8)	84,0	100	
Raccolto da un medico	Tampone vaginale	1	227	12	2	213	0	5,3	100	(73,5–100)	99,1	(96,7–99,9)	85,7	100
	2	197	30	3	163	1	15,7	96,8	(83,3–99,9)	98,2	(94,8–99,6)	90,9	99,4	
	3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8–100)	100	(96,7–100)	100	100	
	4	263	5	3	255	0	1,9	100	(47,8–100)	98,8	(96,6–99,8)	62,5	100	
	5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8–100)	100	(98,1–100)	100	100	
	6	295	19	3	272	1	6,8	95,0	(75,1–99,9)	98,9	(96,8–99,8)	86,4	99,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0		N/A	100	(96,4–100)	N/A	100	
	8	50	1	0	49	0	2,0	100	(2,5–100)	100	(92,7–100)	100	100	
	Tutti	1446	73	11	1360	2	5,2	97,3	(90,7–99,7)	99,2	(98,6–99,6)	86,9	99,9	

TP = Vero positivo; FP = Falso positivo; TN = Vero negativo; FN = Falso negativo; Prev = Prevalenza; IC = intervallo di confidenza; VPP = Valore predittivo positivo; VPN = Valore predittivo negativo; N/A = non disponibile.

Tabella 6b: Sensibilità, specificità e valori predittivi del test Aptima GC Assay in relazione allo stato di infezione delle pazienti in base al centro clinico e nel complesso per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt

Centro	Risultato liquido PreservCyt Aptima GC	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Sensibilità (%) (CI al 95%)	Specificità (%) (CI al 95%)	VPP (%)	VPN (%)
1	Positivo	5	0	0	0	5,0	100 (5/5) (47,8–100)	100 (95/95) (96,2–100)	100	100
	Negativo	0	0	0	95					
	Totale	5	0	0	95					
2	Positivo	1	0	0	0	0,8	100 (1/1) (2,5–100)	100 (123/123) (97,0–100)	100	100
	Negativo	0	0	0	123					
	Totale	1	0	0	123					
3	Positivo	4	0	0	0	1,1	80,0 (4/5) (28,4–99,5)	100 (470/470) (99,2–100)	100	99,8
	Negativo	1	0	0	470					
	Totale	5	0	0	470					
4	Positivo	1	0	0	3	0,3	100 (1/1) (2,5–100)	99,0 (283/286) (97,0–99,8)	25,0	100
	Negativo	0	0	3	280					
	Totale	1	0	3	283					
5	Positivo	0	0	0	0	0,0	N/A	100 (297/297) (98,8–100)	N/A	100
	Negativo	0	0	0	297					
	Totale	0	0	0	297					
6	Positivo	1	0	1 ¹	0	0,3	100 (1/1) (2,5–100)	99,7 (362/363) (98,5–100)	50,0	100
	Negativo	0	0	2	360					
	Totale	1	0	3	360					
TUTTI	Positivo	12	0	1	3	0,8	92,3 (12/13) (64,0–99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4–99,9)	75,0	99,9
	Negativo	1	0	5	1625					
	Totale	13	0	6	1628					

IC = intervallo di confidenza; N/A = non applicabile; VPP = Valore predittivo positivo; VPN = Valore predittivo negativo.

+/+ = Risultato positivo per il tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay / Risultato positivo per il tampone endocervicale nel test Aptima GC Assay.

+/- = Risultato positivo per il tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay / Risultato negativo per il tampone endocervicale nel test Aptima GC Assay.

-/+ = Risultato negativo per il tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay / Risultato positivo per il tampone endocervicale nel test Aptima GC Assay.

-/- = Risultato negativo per il tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay / Risultato negativo del tampone endocervicale nel test Aptima GC Assay.

¹Un campione ha prodotto un risultato contraddittorio: risultato dubbio del tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay/risultato positivo del tampone endocervicale nel test Aptima GC Assay.

Tabella 7a: Risultati per il tampone di uretra maschile in soggetti sintomatici, infetti o non infetti da *N. gonorrhoeae* in base allo stato di infezione pazienti

Stato di infezione pazienti	NAAT 1 (test Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Aptima GC Assay	Totale
	MS	MU	MS	MU	MS	
Infetto	+	+	+	+	+	164
Infetto	+	+	+	+	-	1
Infetto	+	+	+	-	+	3
Infetto	+	+	=	+	+	1
Infetto	+	-	+	+	+	2
Infetto	+	-	+	-	+	1
Non infetto	+	-	-	-	+	2
Non infetto	+	-	-	-	-	1
Non infetto	-	+	-	-	+	1
Non infetto	-	-	+	-	-	1
Non infetto	-	-	-	+	-	2
Non infetto	-	-	-	-	+	3
Non infetto	-	-	-	-	+	2
Non infetto	-	-	-	-	-	386
Non infetto	-	-	-	-	=	1
Non infetto	-	-	-	N/A	-	1
Non infetto	-	-	-	=	-	1
Non infetto	-	-	=	-	-	1
Non infetto	=	-	-	-	+	2
Totale						576

N/A = campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi; **SM** = tampone uretrale maschile da sintomatico;
MU = urina maschile.

Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi.

Tabella 7b: Risultati per i campioni di urina maschile in soggetti infetti o non infetti da *N. gonorrhoeae* in base allo stato di infezione pazienti

Stato di infezione pazienti	NAAT 1 (test Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Aptima GC Assay	Stato sintomatico		Totale
	MS	MU	MS	MU	MU	Sint	Asint	
Infetto	+	+	+	+	+	164	8	172
Infetto	+	+	+	+	+	1	0	1
Infetto	+	+	+	-	+	3	1	4
Infetto	+	+	=	+	+	1	0	1
Infetto	+	-	+	+	+	2	0	2
Infetto	+	-	+	-	-	1	1	2
Non infetto	+	+	-	-	+	0	1	1
Non infetto	+	-	-	-	-	2	13	15
Non infetto	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infetto	-	+	-	-	+	1	0	1
Non infetto	-	+	-	-	-	0	1	1
Non infetto	-	-	+	-	-	1	1	2
Non infetto	-	-	-	+	-	2	2	4
Non infetto	-	-	-	-	+	3	1	4
Non infetto	-	-	-	-	-	2	1	3
Non infetto	-	-	-	-	+	0	3	3
Non infetto	-	-	-	-	-	386	691	1077
Non infetto	-	-	-	-	-	1	2	3
Non infetto	-	-	-	N/A	-	1	4	5
Non infetto	-	-	-	=	-	1	4	5
Non infetto	-	-	=	-	-	1	1	2
Non infetto	-	=	-	-	-	0	1	1
Non infetto	N/A	-	-	-	-	0	1	1
Non infetto	=	-	-	-	-	2	6	8
Non infetto	=	-	-	-	-	0	2	2
Totale						576	745	1321

Sint = sintomatico; **Asint** = asintomatico; **SM** = tampone uretrale maschile; **MU** = urina maschile; **N/A** = campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi.

Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi.

Tabella 7c: Risultati per i tamponi endocervicali e di urina femminile in soggetti infetti o non infetti da *N. gonorrhoeae* in base allo stato di infezione delle pazienti

Stato di infezione pazienti	NAAT 1 (test Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Aptima GC Assay		Stato sintomatico		Totale
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Sint	Asint	
Infetto	+	+	+	+	+	+	43	16	59
Infetto	+	+	+	+	+	-	2	0	2
Infetto	+	+	+	-	+	+	2	1	3
Infetto	+	+	+	-	+	-	0	1	1
Infetto	+	+	+	N/A	+	+	1	0	1
Infetto	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infetto	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infetto	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infetto	+	-	+	-	+	+	0	1	1
Infetto	+	-	+	-	+	-	2	0	2
Infetto	-	+	+	+	-	+	1	0	1
Infetto	-	+	-	+	-	+	0	1	1
Infetto	-	+	-	+	=	+	0	1	1
Infetto	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Non infetto	+	-	-	-	+	-	4	1	5
Non infetto	+	-	-	-	-	-	1	0	1
Non infetto	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infetto	-	-	+	-	+	-	1	0	1
Non infetto	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Non infetto	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Non infetto	-	-	-	-	+	-	1	2	3
Non infetto	-	-	-	-	-	+	1	0	1
Non infetto	-	-	-	-	-	-	718	589	1307
Non infetto	-	-	-	-	=	-	1	0	1
Non infetto	-	-	-	N/A	-	-	2	3	5
Non infetto	-	-	-	=	-	-	11	11	22
Non infetto	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Non infetto	-	N/A	-	-	-	N/A	1	1	2
Non infetto	N/A	-	-	-	N/A	-	5	4	9
Non infetto	=	-	-	-	+	-	1	1	2
Totale							811	640	1451

Sint = sintomatico; **Asint** = asintomatico; **FS** = tampone endocervicale femminile; **FU** = urina femminile; **N/A** = campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi.

Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi.

Tabella 7d: Risultati per il tampone vaginale in soggetti infetti o non infetti da *N. gonorrhoeae* in base allo stato di infezione pazienti

Stato di infezione pazienti	NAAT 1 (test Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Aptima GC Assay		Stato sintomatico		Totale
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sint	Asint	
Infetto	+	+	+	+	+	+	43	15	58
Infetto	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infetto	+	+	+	+	-	-	1	0	1
Infetto	+	+	+	+	N/A	+	0	1	1
Infetto	+	+	+	-	+	+	2	2	4
Infetto	+	+	+	N/A	+	+	1	0	1
Infetto	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infetto	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infetto	+	-	+	+	+	+	1	0	1
Infetto	+	-	+	-	+	+	2	1	3
Infetto	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infetto	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infetto	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infetto	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Non infetto	+	-	-	-	-	-	5	1	6
Non infetto	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infetto	-	-	+	-	+	+	1	0	1
Non infetto	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Non infetto	-	-	-	+	+	+	0	1	1
Non infetto	-	-	-	+	-	-	2	1	3
Non infetto	-	-	-	-	+	+	2	1	3
Non infetto	-	-	-	-	+	-	3	1	4
Non infetto	-	-	-	-	-	+	3	1	4
Non infetto	-	-	-	-	-	-	696	577	1273
Non infetto	-	-	-	-	-	N/A	0	1	1
Non infetto	-	-	-	-	-	=	0	1	1
Non infetto	-	-	-	-	N/A	-	16	9	25
Non infetto	-	-	-	-	N/A	N/A	1	0	1
Non infetto	-	-	-	N/A	-	-	2	2	4
Non infetto	-	-	-	N/A	N/A	-	0	1	1
Non infetto	-	-	-	=	-	-	11	10	21
Non infetto	-	-	-	=	-	N/A	0	1	1
Non infetto	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Non infetto	-	N/A	-	-	-	-	0	1	1
Non infetto	-	N/A	-	-	N/A	N/A	1	0	1
Non infetto	N/A	-	-	-	-	-	5	4	9
Non infetto	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Totale							811	640	1451

Sint = sintomatico; **Asint** = asintomatico; **FS** = tampone endocervicale femminile; **FU** = urina femminile; **PVS** = tampone vaginale raccolto dalla paziente; **CVS** = tampone vaginale raccolto da un medico; **N/A** = campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi.

Tabella 7e: Studio clinico sulla soluzione PreservCyt (risultati sullo stato di infezione della paziente da tamponi endocervicali)

Stato di infezione pazienti	Tampone endocervicale		Stato sintomatico	
	Test Aptima Combo 2 Assay	Aptima GC Assay	Sintomatico	Asintomatico
Infetto	Positivo	Positivo	7	6
Non infetto	Negativo	Negativo	352	1276
Non infetto	Negativo	Positivo	0	5
Non infetto	Dubbio	Positivo	0	1
Totale			359	1288

Distribuzione delle RLU per i controlli Aptima

La distribuzione delle RLU per il controllo positivo, GC/controllo negativo, CT e per il controllo positivo, CT/controllo negativo, GC, derivante da tutte le sessioni analitiche del test Aptima GC Assay eseguite durante lo studio su campioni clinici è illustrata in Tabella 8.

Tabella 8: Distribuzione delle RLU dei Controlli Aptima durante gli studi su campioni clinici comprendenti tamponi endocervicali, vaginali e tamponi uretrali maschili, e campioni di urina maschile e femminile, e durante gli studi sui campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt

Controllo	Statistica	RLU (x1.000)	
		Studio clinico sui campioni di tampone e di urina	Studio clinico relativo ai campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt
Controllo positivo, GC/Controllo negativo, CT	N	193	218
	Media	5048	4561
	DS	1071	1.295
	Massimo	6765	6791
	75° percentile	5763	5450
	Mediana	5175	4859
	25° percentile	4645	3804
	Livello minimo	229	158
Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC	N	193	218
	Media	2,15	2,60
	DS	2,20	2,80
	Massimo	20	29
	75° percentile	2	3
	Mediana	2	2
	25° percentile	1	2
	Livello minimo	0	1

RLU = Unità di luce relativa; DS = Deviazione standard.

Nota: il valore di RLU riportato dal software ha costituito la base per l'analisi. Il valore di RLU riportato è dato dalle RLU totali misurate diviso per 1000 con arrotondamento delle cifre decimali.

Concordanza dei campioni clinici

Il test Aptima GC Assay è stato lanciato inizialmente su sistemi DTS semi-automatizzati e successivamente sul Tigris DTS System. Nel 2010, le indicazioni d'uso sono state estese all'utilizzo del test Aptima GC Assay sul Panther System. Il Panther System è una piattaforma di strumenti più piccola e alternativa al Tigris DTS System. Entrambi i sistemi sono concepiti per la completa automazione del test dell'acido nucleico amplificato nei test diagnostici. Determinati test sulle prestazioni eseguiti su DTS System semi-automatizzati e su Tigris DTS System sono stati utilizzati per supportare le prestazioni di analisi sul Panther System.

La sensibilità, la specificità e i valori predittivi del test Aptima GC Assay sono stati stabiliti mediante il sistema DTS. La concordanza fra i risultati del test Aptima GC Assay generati su Tigris DTS System completamente automatizzati e su sistemi DTS semi-automatizzati è stata valutata analizzando campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile, di urina femminile e maschile, di tampone vaginale e campioni per Pap test raccolti nella soluzione PreservCyt. Ciascuno dei campioni clinici è stato analizzato singolarmente con il test Aptima GC Assay sia sul sistema Tigris DTS sia sui sistemi DTS presso Hologic. L'ordine di analisi non era randomizzato. I campioni identificati per il trattamento sono stati analizzati sul Tigris DTS System e successivamente sui DTS System.

Studio sulla concordanza dei campioni clinici - Campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile, di urina maschile e femminile, di tampone vaginale e per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt

Soggetti maschili e femminili, frequentatori di cliniche per malattie a trasmissione sessuale (STD), ginecologiche e per il controllo delle nascite in otto centri clinici geograficamente distinti con prevalenza per GC da bassa ad alta hanno contribuito con campioni di tampone endocervicale, tampone uretrale maschile, urina maschile e femminile, tampone vaginale e campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt. I campioni sono stati trasferiti direttamente a Hologic per l'analisi. In Hologic, i campioni di tampone endocervicale, tampone di uretra maschile e di urina femminile e maschile sono stati dapprima sottoposti a screening con il test Aptima Combo 2 Assay sul sistema Tigris DTS. I campioni di tampone vaginale e per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt sono stati sottoposti a screening con il test Aptima Combo 2 Assay sui sistemi DTS. I campioni con risultati finali non validi o dubbi non sono stati selezionati per lo Studio sulla concordanza dei campioni clinici Aptima GC.

Centoventinove tamponi femminili (70 endocervicali e 59 vaginali), 133 tamponi uretrali maschili, 72 campioni di urina femminile, 130 campioni di urina maschile e 51 campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt con risultati positivi e negativi per GC con il test Aptima Combo 2 Assay sono stati selezionati per l'analisi comparativa tra il sistema Tigris DTS e i sistemi DTS per il test Aptima GC Assay. La maggioranza dei campioni (88 tamponi femminili, 93 tamponi maschili, 47 campioni di urina femminile e 70 di urina maschile, e 34 campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt) selezionati per l'analisi comparativa proveniva da individui sintomatici. I campioni con risultati iniziali non validi o dubbi sono stati rianalizzati usando lo stesso sistema che aveva generato i primi risultati. Tre campioni di urina femminile, 1 tampone vaginale e 1 tampone di uretra maschile che avevano dato risultati iniziali dubbi sui sistemi DTS hanno prodotto tutti risultati validi in occasione della nuova analisi. Un campione di urina maschile e uno di urina femminile che avevano dato risultati iniziali non validi sul sistema Tigris DTS, hanno entrambi prodotto risultati validi in occasione della nuova analisi.

La Tabella 9 mostra le concordanze positiva, negativa e complessive per tutti i risultati abbinati per ciascun tipo di campione in relazione allo stato sintomatico. I campioni di tampone femminile (endocervicale e vaginale combinati) mostrano uno squilibrio in quanto a campioni positivi e negativi provenienti da soggetti sintomatici, ma la concordanza complessiva è risultata del 100% per i soggetti sintomatici, del 97,6% (40/41) per i soggetti asintomatici e del 99,2% (128/129) per 'tutti' i soggetti (sintomatici e asintomatici combinati). Per i campioni di tampone uretrale maschile, la concordanza complessiva per i soggetti sintomatici, per quelli asintomatici e per 'tutti' i soggetti è risultata del 100%. Per i campioni di urina femminile, la concordanza complessiva è risultata del 100% per i soggetti sintomatici, del 96,0% (24/25) per i soggetti asintomatici e del 98,6% (71/72) per 'tutti' i soggetti.

Per i campioni di urina maschile, la concordanza complessiva è risultata del 98,6% (69/70) per i soggetti sintomatici, del 100% per i soggetti asintomatici e del 99,2% (129/130) per 'tutti' i soggetti. Per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt, la concordanza complessiva per i soggetti sintomatici, per quelli asintomatici e per 'tutti' i soggetti è risultata del 100%. Dato il numero relativamente inferiore di campioni provenienti da soggetti asintomatici, le conclusioni non possono essere generalizzabili alle analisi eseguite con il test Aptima GC Assay sul sistema DTS Tigris relativamente ai campioni provenienti da soggetti asintomatici.

Consultare la Tabella 4 per le stime sulle prestazioni del test Aptima GC Assay per i campioni di tampone endocervicale, di tampone vaginale, di tampone uretrale maschile, e di urina maschile e femminile, e la Tabella 5b per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt analizzati sui sistemi DTS. Dati gli esiti di concordanza, ci si aspetterebbe una similitudine tra le stime sulle prestazioni cliniche per il sistema DTS Tigris con campioni di tampone endocervicale, di tampone vaginale, di tampone di uretra maschile, di urina femminile e maschile e per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt.

Tabella 9: Studio di concordanza del campione biologico: concordanze positive, negative e complessive in base allo stato sintomatico

Sintomo	Campione biologico	Genere	n	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris-	DTS- Tigris+	DTS- Tigris-	Concordanza % positiva (IC del 95%)	Concordanza % negativa (IC del 95%)	Concordanza % complessiva (IC del 95%)
Sint	Tampone	Femmina ¹	88	55	0	0	33	100 (93,5–100)	100 (89,4–100)	100 (95,9–100)
		Maschio	93	66	0	0	27	100 (94,6–100)	100 (87,2–100)	100 (96,1–100)
	Urina	Femmina	47	24	0	0	23	100 (85,8–100)	100 (85,2–100)	100 (92,5–100)
		Maschio	70	60	1	0	9	98,4 (91,2–100)	100 (66,4–100)	98,6 (92,3–100)
	PreservCyt Soluzione	Femmina	34	28	0	0	6	100 (87,7–100)	100 (54,1–100)	100 (89,7–100)
	Asint	Tampone	Femmina ¹	41	23	0	1 ²	17	100 (85,2–100)	94,4 (72,7–99,9)
Maschio			40	7	0	0	33	100 (59,0–100)	100 (89,4–100)	100 (91,2–100)
Urina		Femmina	25	9	0	1	15	100 (66,4–100)	93,8 (69,8–99,8)	96,0 (79,6–99,9)
		Maschio	60	5	0	0	55	100 (47,8–100)	100 (93,5–100)	100 (94,0–100)
PreservCyt Soluzione		Femmina	17	12	0	0	5	100 (73,5–100)	100 (47,8–100)	100 (80,5–100)
Tutti		Tampone	Femmina ¹	129	78	0	1 ²	50	100 (95,4–100)	98,0 (89,6–100)
	Maschio		133	73	0	0	60	100 (95,1–100)	100 (94,0–100)	100 (97,3–100)
	Urina	Femmina	72	33	0	1	38	100 (89,4–100)	97,4 (86,5–99,9)	98,6 (92,5–100)
		Maschio	130	65	1	0	64	98,5 (91,8–100)	100 (94,4–100)	99,2 (95,8–100)
	PreservCyt Soluzione	Femmina	51	40	0	0	11	100 (91,2–100)	100 (71,5–100)	100 (93,0–100)

Sint = sintomatico; **Asint** = asintomatico; **IC** = intervallo di confidenza.

"+" indica un risultato positivo, "-" indica un risultato negativo.

¹Campioni di tampone endocervicale e vaginale combinati.

²Una discordanza tra i tamponi vaginali.

Concordanza dei campioni clinici sul Panther System

Dal momento che l'urina produce i risultati più variabili tra tutti i tipi di campione destinati all'uso con il test Aptima GC Assay, è stata selezionata come tipo di campione rappresentativo per stabilire l'equivalenza tra il test Aptima GC Assay sul sistema DTS Tigris e sul Panther System. Ne consegue che un alto grado di concordanza tra i campioni di urina indicherebbe l'aspettativa di un altrettanto alto grado di concordanza per tutti gli altri tipi di campione.

I pannelli sono stati generati impiegando campioni clinici di urina: gli elementi del pannello negativo sono stati creati impiegando campioni singoli di urina risultati negativi a GC, mentre gli elementi del pannello positivo sono stati creati impiegando campioni singoli di urina naturalmente infetti, risultati positivi a GC, diluiti con campioni singoli di urina abbinati al genere per soddisfare gli intervalli di riferimento delle RLU. La sessione analitica dei pannelli è stata eseguita presso tre siti di prova (due esterni e uno interno).

Tabella 10: Concordanza tra il sistema Tigris DTS e il Panther System con l'impiego dei pannelli di urina

Panther System	Sistema Tigris			
	Negativo	Dubbio	Positivo basso	Positivo
Negativo	360	0	0	0
Dubbio	0	0	0	0
Positivo basso	0	0	120	9
Positivo	0	0	18	198
Totale	360	0	138	207
Concordanza (%)	100 (360/360)	0 (0/0)	92,2 (318/345)	
(IC 95%) ¹	(96,9–100)	—	(85,8–95,8)	

¹Calcolato con il metodo Score in base al numero univoco di campioni analizzati.

La concordanza negativa tra il sistema Tigris DTS e il Panther System è stata del 100% per tutti i campioni GC-negativi. Con la classificazione basata sull'intervallo delle RLU, la concordanza positiva è stata del 92,2%; ad ogni modo, il test Aptima GC Assay eseguito sia sul sistema Tigris DTS sia sul Panther System ha correttamente individuato come positivi tutti i membri del pannello GC-positivo. Ne deriva che la concordanza tra il sistema Tigris DTS e il Panther System per il rilevamento qualitativo di GC nei campioni di urina è stata del 100%. Dal momento che il test Aptima GC Assay è destinato all'uso per il rilevamento qualitativo di GC in campioni clinici, si può concludere che la prestazione del test è simile per entrambi i sistemi.

Fare riferimento alla Tabella 4 per le stime della prestazione del test Aptima GC Assay sui tamponi endocervicali e sui tamponi vaginali e uretrali maschili raccolti dal medico, e alla Tabella 5b per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt analizzati sui sistemi DTS. Le stime sulla prestazione clinica del Panther System con tutti i tipi di campione prevedrebbe risultati simili, date le conclusioni relative alla concordanza di entrambi gli studi in merito, condotti sul sistema DTS e sul Panther System.

Prestazioni cliniche del Panther System

Studio clinico

È stato condotto uno studio clinico prospettico, multicentrico, per stabilire le caratteristiche delle prestazioni cliniche del test Aptima GC Assay sul Panther System. Sono stati raccolti campioni da 4.413 donne e uomini sintomatici e asintomatici partecipanti allo studio presso 11 centri clinici distinti dal punto di vista geografico ed etnico negli Stati Uniti, che includono cliniche ostetriche e ginecologiche, per il controllo delle nascite e per le infezioni sessualmente trasmissibili. I soggetti sono stati classificati come sintomatici se riportavano sintomi. I pazienti sono stati classificati come asintomatici se non riportavano sintomi. Centonovanta (190) soggetti arruolati non erano valutabili (28 sono stati ritirati e 162 non disponevano di almeno un campione con risultato valido non escluso del test Aptima e di uno stato di infezione conclusivo). Dei 4223 soggetti valutabili, 2264 erano donne e 1959 uomini. L'età media tra i soggetti valutabili dello studio era di 34,5 anni (intervallo = da 14 a 84 anni). I sintomi sono stati riportati nel 45,6% (1927/4223) dei soggetti valutabili.

Sono stati raccolti fino a 5 campioni da ciascun soggetto di sesso femminile (1 della prima urina della giornata e 4 tamponi vaginali raccolti dalla paziente, in quest'ordine) e 1 campione della prima urina della giornata da ciascun soggetto di sesso maschile. Tutti i campioni sono stati raccolti dal soggetto presso i centri clinici.

I campioni sono stati analizzati con il test Aptima GC Assay sul Panther System. I campioni con risultati iniziali del test Aptima GC Assay dubbi o non validi, e quelli compromessi da errori di elaborazione dello strumento sono stati rianalizzati, volume permettendo; i risultati validi dei nuovi test sono stati inclusi nelle analisi delle prestazioni. I tamponi vaginali raccolti dalle pazienti e i campioni di urina maschile e femminile sono stati testati con un massimo di 3 NAAT approvati dalla FDA per stabilire lo stato specifico di infezione del/della paziente per il campione (PIS) come segue:

- Il PIS dell'urina maschile è stato derivato da campioni di urina maschile
- Il PIS dell'urina femminile è stato derivato da campioni di urina femminile
- Il PIS del tampone vaginale è stato derivato da campioni di tampone vaginale e di urina femminile

Le prestazioni del test Aptima GC Assay sono state stimate in relazione al PIS specifico del campione per ciascuno dei tipi di campione.

Dei campioni raccolti, 6556 sono stati trattati in sessioni valide del test Aptima GC Assay; di questi, è stato necessario rianalizzarne 218 (3,3%) a causa di risultati non validi. Nel complesso, 6513 (99,3%) hanno avuto risultati finali validi e 43 (0,7%) hanno avuto risultati finali non validi e sono stati esclusi dalle analisi. Nelle analisi che confrontavano i risultati del test Aptima GC Assay con il PIS, è stato incluso un totale di 6362 campioni provenienti da 4222 soggetti valutabili: 2237 campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente, 2167 campioni di urina femminile e 1958 campioni di urina maschile. Dall'analisi delle prestazioni sono stati esclusi quattro campioni con risultati GC finali dubbi.

Risultati delle prestazioni

Le caratteristiche prestazionali del test Aptima GC Assay sono state stimate per ciascun tipo di campione. La Tabella 11 mostra la sensibilità, la specificità, il VPP e il VPN del test Aptima GC Assay sul Panther System e la prevalenza di *N. gonorrhoeae* (in base al PIS specifico del campione) in ciascun tipo di campione in base allo stato dei sintomi e complessivi.

Tabella 11: Caratteristiche prestazionali del test Aptima GC Assay: tampone vaginale raccolto dalla paziente, campioni di urina maschile e femminile in base allo stato sintomatico

Tipo di campione biologico	Stato sintomatico	n	TP	FP ¹	TN	FN ²	% Prev	Sensibilità % (CI al 95%) ³	Specificità % (CI al 95%) ³	VPP % (CI al 95%) ⁴	VPN % (CI al 95%) ⁴
PVS	Sint	1086	24	1 ^a	1060	1 ^a	2,3	96,0 (80,5, 99,3)	99,9 (99,5, 100)	96,0 (81,7, 99,9)	99,9 (99,5, 100)
	Asint	1151	14	1 ^b	1135	1 ^b	1,3	93,3 (70,2, 98,8)	99,9 (99,5, 100)	93,3 (72,6, 99,8)	99,9 (99,6, 100)
	Tutti	2237	38	2	2195	2	1,8	95,0 (83,5, 98,6)	99,9 (99,7, 100)	95,0 (84,5, 99,6)	99,9 (99,7, 100)
FU	Sint	1043	25	0	1018	0	2,4	100 (86,7, 100)	100 (99,6, 100)	100 (87,2, 100)	100 (99,7, 100)
	Asint	1124	11	1 ^c	1109	3 ^c	1,2	78,6 (52,4, 92,4)	99,9 (99,5, 100)	91,7 (66,0, 99,7)	99,7 (99,4, 100)
	Tutti	2167	36	1	2127	3	1,8	92,3 (79,7, 97,3)	100 (99,7, 100)	97,3 (87,2, 99,9)	99,9 (99,6, 100)
MU	Sint	825	105	1 ^d	717	2 ^d	13,0	98,1 (93,4, 99,5)	99,9 (99,2, 100)	99,1 (95,1, 100)	99,7 (99,0, 100)
	Asint	1133	20	0	1113	0	1,8	100 (83,9, 100)	100 (99,7, 100)	100 (84,4, 100)	100 (99,7, 100)
	Tutti	1958	125	1	1830	2	6,5	98,4 (94,4, 99,6)	99,9 (99,7, 100)	99,2 (95,8, 100)	99,9 (99,6, 100)

Sint = sintomatico; Asint = asintomatico; TP = vero positivo; FP = falso positivo; TN = vero negativo; FN = falso negativo; Prev = prevalenza; IC = intervallo di confidenza; PVS = tampone vaginale raccolto dalla paziente; FU = urina femminile; MU = urina maschile; VPP = valore predittivo positivo; VPN = valore predittivo negativo.

¹ campioni dello stesso tipo sono stati analizzati anche con un test NAAT per *N. Gonorrhoeae* alternativo, con i seguenti risultati (N. risultati positivi / N. campioni analizzati): ^a0/1; ^b0/1; ^c0/1; ^d1/1.

² campioni dello stesso tipo sono stati analizzati anche con un test NAAT per *N. Gonorrhoeae* alternativo, con i seguenti risultati (N. risultati negativi / N. campioni analizzati): ^a0/1; ^b0/1; ^c1/3; ^d1/2.

³IC dello score.

⁴IC 95% VPP calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità positivo, IC 95% VPN calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità negativo.

La Tabella 12 mostra la sensibilità, la specificità, il VPP e il VPN del test Aptima GC Assay sul Panther System e la prevalenza di *N. gonorrhoeae* (in base al PIS specifico del campione) in ciascun tipo di campione in base al centro di raccolta. Come previsto, la prevalenza variava tra i centri di raccolta.

Tabella 12: Caratteristiche prestazionali del test Aptima Neisseria gonorrhoeae Assay per centro di raccolta

Campione biologico Tipo	Centro	N	TP	FP	TN	FN	% Prev	Sensibilità in % (CI al 95%) ¹	Specificità in % (CI al 95%) ¹	VPP % (CI al 95%) ²	VPN % (CI al 95%) ²
PVS	1	21	3	0	18	0	14,3	100 (43,9, 100)	100 (82,4, 100)	100 (46,2, 100)	100 (89,5, 100)
	2	383	5	0	378	0	1,3	100 (56,6, 100)	100 (99,0, 100)	100 (57,7, 100)	100 (99,3, 100)
	3	75	0	0	75	0	0,0	NC	100 (95,1, 100)	NC	100 (NC)
	4	5	0	0	5	0	0,0	NC	100 (56,6, 100)	NC	100 (NC)
	5	254	5	0	249	0	2,0	100 (56,6, 100)	100 (98,5, 100)	100 (57,7, 100)	100 (99,0, 100)
	6	494	9	1	483	1	2,0	90,0 (59,6, 98,2)	99,8 (98,8, 100)	90,0 (63,1, 99,6)	99,8 (99,1, 100)
	7	246	4	1	241	0	1,6	100 (51,0, 100)	99,6 (97,7, 99,9)	80,0 (39,9, 99,4)	100 (99,0, 100)
	8	95	0	0	95	0	0,0	NC	100 (96,1, 100)	NC	100 (NC)
	9	313	1	0	312	0	0,3	100 (20,7, 100)	100 (98,8, 100)	100 (6,4, 100)	100 (99,7, 100)
	10	255	11	0	243	1	4,7	91,7 (64,6, 98,5)	100 (98,4, 100)	100 (76,3, 100)	99,6 (98,1, 100)
	11	96	0	0	96	0	0,0	NC	100 (96,2, 100)	NC	100 (NC)

Tabella 12: Caratteristiche prestazionali del test Aptima Neisseria gonorrhoeae Assay per centro di raccolta

Campione biologico Tipo	Centro	N	TP	FP	TN	FN	% Prev	Sensibilità in % (CI al 95%) ¹	Specificità in % (CI al 95%) ¹	VPP % (CI al 95%) ²	VPN % (CI al 95%) ²
FU	1	22	3	0	19	0	13,6	100 (43,9, 100)	100 (83,2, 100)	100 (46,1, 100)	100 (90,0, 100)
	2	385	5	0	379	1	1,6	83,3 (43,6, 97,0)	100 (99,0, 100)	100 (59,6, 100)	99,7 (99,0, 100)
	3	74	0	0	74	0	0,0	NC	100 (95,1, 100)	NC	100 (NC)
	4	5	0	0	5	0	0,0	NC	100 (56,6, 100)	NC	100 (NC)
	5	250	5	0	245	0	2,0	100 (56,6, 100)	100 (98,5, 100)	100 (57,7, 100)	100 (98,9, 100)
	6	484	9	1	473	1	2,1	90,0 (59,6, 98,2)	99,8 (98,8, 100)	90,0 (63,1, 99,6)	99,8 (99,1, 100)
	7	245	4	0	241	0	1,6	100 (51,0, 100)	100 (98,4, 100)	100 (52,2, 100)	100 (99,0, 100)
	8	97	0	0	97	0	0,0	NC	100 (96,2, 100)	NC	100 (NC)
	9	261	0	0	261	0	0,0	NC	100 (98,5, 100)	NC	100 (NC)
	10	253	10	0	242	1	4,3	90,9 (62,3, 98,4)	100 (98,4, 100)	100 (74,6, 100)	99,6 (98,2, 100)
	11	91	0	0	91	0	0,0	NC	100 (95,9, 100)	NC	100 (NC)
MU	1	175	38	0	137	0	21,7	100 (90,8, 100)	100 (97,3, 100)	100 (91,3, 100)	100 (97,5, 100)
	2	373	3	0	370	0	0,8	100 (43,9, 100)	100 (99,0, 100)	100 (44,4, 100)	100 (99,4, 100)
	3	61	0	0	61	0	0,0	NC	100 (94,1, 100)	NC	100 (NC)
	4	13	0	0	13	0	0,0	NC	100 (77,2, 100)	NC	100 (NC)
	5	409	34	0	374	1	8,6	97,1 (85,5, 99,5)	100 (99,0, 100)	100 (90,5, 100)	99,7 (98,6, 100)
	6	307	28	1	278	0	9,1	100 (87,9, 100)	99,6 (98,0, 99,9)	96,6 (83,5, 99,9)	100 (98,8, 100)
	7	225	12	0	213	0	5,3	100 (75,8, 100)	100 (98,2, 100)	100 (76,6, 100)	100 (98,6, 100)
	8	32	0	0	32	0	0,0	NC	100 (89,3, 100)	NC	100 (NC)
	9	218	0	0	218	0	0,0	NC	100 (98,3, 100)	NC	100 (NC)
	10	91	10	0	80	1	12,1	90,9 (62,3, 98,4)	100 (95,4, 100)	100 (74,9, 100)	98,8 (94,6, 100)
	11	54	0	0	54	0	0,0	NC	100 (93,4, 100)	NC	100 (NC)

TP = Vero positivo; FP = Falso positivo; TN = Vero negativo; FN = Falso negativo; Prev = Prevalenza; IC = Intervallo di confidenza; VPP = valore predittivo positivo; VPN = valore predittivo negativo; PVS = tampone vaginale raccolto dalla paziente; FU = urina femminile; MU = urina maschile; NC = non calcolabile.

¹ IC dello score.

² IC 95% del VPP calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità positivo, IC 95% del VPN calcolato dall'esatto IC 95% per il rapporto di probabilità negativo.

Tabelle dello stato di infezione da *Neisseria gonorrhoeae*

La frequenza dei risultati prodotti dal test NAAT di riferimento e dalle analisi sul Panther System in fase di sperimentazione è riassunta in Tabella 13a e in Tabella 13b.

Tabella 13a: Stato di infezione da *N. gonorrhoeae* per campioni di urina femminile e maschile

Campione biologico Tipo	Stato di infezione paziente	NAAT 1	NAAT 2	NAAT 3	AGC Assay	Stato sintomatico	
						Sint	Asint
FU	Infetto	+	+	N/A	+	21	10
	Infetto	+	+	N/A	-	0	2
	Infetto	+	NR	+	+	1	0
	Infetto	-	+	+	+	2	0
	Infetto	-	+	+	-	0	1
	Infetto	NR	+	+	+	1	1
	Non infetto	-	+	-	-	0	2
	Non infetto	-	-	N/A	+	0	1
	Non infetto	-	-	N/A	-	981	1077
	Non infetto	-	NR	-	-	1	1
MU	Non infetto	NR	-	-	-	36	29
	Infetto	+	+	N/A	+	97	19
	Infetto	+	+	N/A	-	2	0
	Infetto	+	NR	+	+	1	0
	Infetto	-	+	+	+	2	1
	Infetto	NR	+	+	+	5	0
	Non infetto	+	-	-	+	1	0
	Non infetto	-	+	-	-	1	2
	Non infetto	-	-	N/A	-	689	1079
	Non infetto	-	-	N/A	=	0	1
Non infetto	-	NR	-	-	1	0	
Non infetto	NR	-	-	-	26	32	

Sint = sintomatico; **Asint** = asintomatico; **AGC Assay** = Test Aptima *Neisseria gonorrhoeae* Assay; **FU** = urina femminile; **MU** = urina maschile; **N/A** = non applicabile; **NR** = nessun risultato.

Nota: il simbolo di uguale (=) rappresenta un risultato finale dubbio.

Tabella 13b: Stato di infezione da *N. gonorrhoeae* per i campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente

Stato di infezione pazienti	NAAT 1		NAAT 2		AGC Assay	Stato sintomatico	
	PVS	FU	PVS	FU		Sint	Asint
Infetto	+	+	+	+	+	20	12
Infetto	+	+	+	+	-	0	1
Infetto	+	+	+	NR	+	1	0
Infetto	+	-	+	+	+	1	0
Infetto	+	-	+	+	=	0	1
Infetto	+	-	+	-	+	1	1
Infetto	+	-	+	-	-	1	0
Infetto	+	NR	+	+	+	0	1

Tabella 13b: Stato di infezione da *N. gonorrhoeae* per i campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente

Stato di infezione pazienti	NAAT 1		NAAT 2		AGC Assay	Stato sintomatico	
	PVS	FU	PVS	FU		Sint	Asint
Infetto	-	+	+	+	+	1	0
Non infetto	+	-	-	-	-	2	0
Non infetto	-	-	+	+	+	1	0
Non infetto	-	-	+	-	-	2	2
Non infetto	-	-	-	+	-	0	2
Non infetto	-	-	-	-	+	0	1
Non infetto	-	-	-	-	-	961	1064
Non infetto	-	-	-	-	=	1	1
Non infetto	-	-	-	NR	-	1	0
Non infetto	-	-	NR	-	-	12	10
Non infetto	-	-	NR	NR	-	0	1
Non infetto	-	NR	-	-	-	37	25
Non infetto	NR	-	-	-	-	3	6
Non infetto	NR	NR	-	-	-	42	25

Sint = sintomatico; **Asint** = asintomatico; **AGC Assay** = Test Aptima Neisseria gonorrhoeae Assay; **PVS** = tampone vaginale raccolto dalla paziente; **FU** = urina femminile; **NR** = nessun risultato.

Nota: il simbolo di uguale (=) rappresenta un risultato finale dubbio.

Distribuzione delle RLU per i controlli del test Aptima GC Assay

La distribuzione dei valori delle RLU per i controlli del test Aptima GC Assay è illustrata nella Tabella 14 da tutte le analisi valide del Panther System eseguite durante lo studio clinico che includevano tamponi vaginali raccolti dalla paziente e campioni di urina maschile e femminile.

Tabella 14: Distribuzione delle RLU per i controlli negativo e positivo del test Aptima GC Assay

Controllo	Statistica	RLU totali (x1.000)
Controllo positivo, GC/Controllo negativo, CT	N	161
	Livello minimo	2416
	Mediana	5543,0
	Massimo	6477
	CV%	14,62
Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC	N	161
	Livello minimo	2
	Mediana	4,0
	Massimo	40
	CV%	93,85

CV% = Coefficiente di variazione percentuale; **RLU** = Unità di luce relativa.

Nota: il valore di RLU riportato dal software ha costituito la base per l'analisi. Il valore di RLU riportato è dato dalle RLU totali misurate diviso per 1000 con arrotondamento delle cifre decimali.

Prestazioni analitiche

Sensibilità analitica (DTS)

La sensibilità analitica per *N. gonorrhoeae* (limite di rilevamento) è stata stabilita confrontando direttamente diluizioni di 51 diversi isolati clinici in coltura e nel test Aptima GC Assay. La dichiarazione di sensibilità analitica per il test è di 50 CFU/test (362 CFU/tampone, 250 CFU/ml di urina e 487,5 CFU/ml di campione per Pap test raccolto in soluzione PreservCyt).

Studio sull'equivalenza della sensibilità analitica (Tigris)

Pannelli di sensibilità in gruppi di tamponi endocervicali, gruppi di tamponi vaginali, gruppi di campioni di urina e gruppi di campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt sono stati preparati con 250 fg GC rRNA/test e 60 replicati sono stati analizzati sul sistema Tigris DTS. La percentuale di positività (IC 95%) sul sistema Tigris DTS è risultata del 100% (95,1–100) per i campioni di tampone endocervicale, del 100% (95,1–100) per i campioni di tampone vaginale, del 100% (95,1–100) per i campioni di urina e del 100% (95,1–100) per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt.

Studio sul pannello clinico addizionato con rRNA di GC (DTS e Tigris)

Lo studio sul pannello clinico addizionato con rRNA di GC valutava la concordanza tra i due sistemi usando sei pannelli clinici preparati da Hologic, addizionati di una quantità compresa tra 0 e 250.000 fg rRNA/test di GC. I pannelli clinici GC erano stati creati da campioni di tampone endocervicale, tampone vaginale, tampone di uretra, urina maschile, urina femminile e campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt, che avevano dato risultati negativi al test Aptima GC Assay sui sistemi DTS durante l'analisi in Hologic. I campioni negativi sono stati raggruppati in base al tipo di campione, addizionati o non addizionati con rRNA di GC e aliquotati come replicati di ciascun elemento del pannello. Replicati di ciascuno dei 6 elementi del pannello con diversi livelli di rRNA addizionato sono stati combinati per creare un pannello clinico per ciascun tipo di campione. Ciascun pannello conteneva un totale di 132 replicati.

I dati iniziali relativi all'urina maschile e femminile mostrano che alcuni elementi del pannello contenenti rRNA a un livello inferiore alla sensibilità analitica dichiarata davano inaspettati risultati negativi sul sistema DTS Tigris. Due studi sono stati successivamente condotti allo scopo di dimostrare e confermare la concordanza con i risultati previsti nei pannelli di urina maschile o femminile addizionati. La struttura dello studio originale combinava campioni negativi in un unico pool principale. La struttura degli studi di follow-up per i campioni di urina maschile e femminile è stata modificata. I campioni sono stati aliquotati in mini-pool dichiaratamente negativi allo scopo di creare pannelli positivi e negativi. Per ogni pannello sono stati creati centotrentotto replicati.

La Tabella 15 mostra la concordanza percentuale con i risultati GC previsti per il sistema Tigris DTS e i sistemi DTS per ciascun livello di rRNA nei pannelli di tampone endocervicale, tampone vaginale, tampone uretrale, urina maschile, urina femminile e campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt, rispettivamente. La concentrazione variava da 1 registro inferiore a 3 registri superiori ai 250 fg rRNA/test per GC. La Tabella 15 mostra anche le concordanze percentuali complessive dello studio sul pannello clinico tra il sistema Tigris DTS e i sistemi DTS.

Tabella 15: Studio sulla concordanza del pannello clinico addizionato con rRNA di GC

Campione biologico	Elemento del pannello	Concentrazione (fg rRNA/test)	Replicati	Tigris % concor.	DTS % concor.	Concordanza % complessiva tra Tigris e DTS (IC del 95%)
Endocervicale	Nessun target	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
	Molto basso	25	30	100	100	
	Bassa	250	30	100	100	
	Medio	2.500	30	100	100	
	Alta	250.000	30	100	100	
Tampone Vaginale	Nessun target	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
	Molto basso	25	29*	100	100	
	Bassa	250	30	100	100	
	Medio	2.500	30	100	100	
	Alta	250.000	30	100	100	
Uretrale	Nessun target	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
	Molto basso	25	30	100	100	
	Bassa	250	30	100	100	
	Medio	2.500	30	100	100	
	Alta	250.000	30	100	100	
Studio iniziale	Nessun target	0	12	100	100	91,7 (85,6-95,8)
	Molto basso	25	30	63,3 (19/30)	100	
	Bassa	250	30	100	100	
	Medio	2.500	30	100	100	
	Alta	250.000	30	100	100	
Urina maschile Follow-up 1	Nessun target	0	18	100	100	100 (97,4 - 100)
	Molto basso	25	30	100	100	
	Bassa	250	30	100	100	
	Medio	2.500	30	100	100	
	Alta	250.000	30	100	100	
Urina maschile Follow-up 2	Nessun target	0	18	100	100	100 (97,4 - 100)
	Molto basso	25	30	100	100	
	Bassa	250	30	100	100	
	Medio	2.500	30	100	100	
	Alta	250.000	30	100	100	

*Non analizzato su entrambi i sistemi per insufficiente volume del campione

Tabella 15: Studio sulla concordanza del pannello clinico addizionato con rRNA di GC (continua)

Campione biologico	Elemento del pannello	Concentrazione (fg rRNA/test)	Replicati	Tigris % concor.	DTS % concor.	Concordanza % complessiva tra Tigris e DTS (IC del 95%)
Studio iniziale	Nessun target	0	12	100	100	75,8 (67,5–82,8)
	Molto basso	25	30	13,3 (4/30)	100	
	Bassa	250	30	80 (24/30)	100	
	Medio	2.500	30	100	100	
	Alta	250.000	30	100	100	
Urina femminile	Nessun target	0	18	100	100	99,3 (96,0–100)
	Molto basso	25	30	96,7 (29/30)	100	
	Bassa	250	30	100	100	
	Medio	2.500	30	100	100	
	Alta	250.000	30	100	100	
Follow-up 2	Nessun target	0	18	100	100	97,8 (93,8 - 99,5)
	Molto basso	25	30	90 (27/30)	100	
	Bassa	250	30	100	100	
	Medio	2.500	30	100	100	
	Alta	250.000	30	100	100	
Pap in soluzione PreservCyt	Nessun target	0	12	100	100	100 (97–100)
	Molto basso	25	30	100	100	
	Bassa	250	30	100	100	
	Medio	2.500	30	100	100	
	Alta	250.000	30	100	100	

*Non analizzato su entrambi i sistemi per insufficiente volume del campione

Studio sulla concordanza del pannello clinico addizionato (Tigris e Panther)

Singoli campioni negativi di urina sono stati addizionati con GC allo scopo di creare un pannello di 120 positivi per GC. Gli elementi del pannello GC-positivi sono stati addizionati con organismi a 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml o 1250 CFU/ml (25 fg/test, 250 fg/test o 2.500 fg/test). Sono stati inoltre raccolti 120 campioni di urina negativi per GC. I pannelli positivi e negativi sono stati analizzati su tre Panther System e su tre Tigris DTS System. La concordanza percentuale positiva tra il Panther System e il sistema DTS Tigris è risultata del 100% con un limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% di 98,9. La concordanza percentuale negativa tra il Panther System e il sistema DTS Tigris è risultata del 100% con un limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% di 98,9. I risultati dello studio sono illustrati nella Tabella 16.

Tabella 16: Studio sulla concordanza del pannello clinico arricchito: concordanza con i risultati GC attesi

Elemento del pannello	Concentrazione		Replicati	Tigris % concordanza	Panther % concordanza
	CFU/mL	fg/test			
Positivo molto basso	12,5	25	117	100	100
Positivo basso	125	250	120	100	100
Positivo medio	1.250	2500	120	100	100
Negativo	0	0	360	100	100

Concordanza percentuale positiva complessiva tra DTS Tigris e Panther (IC del 95%): 100% (98,9-100).

Concordanza percentuale negativa complessiva tra DTS Tigris e Panther (IC del 95%): 100% (98,9-100).

Studio sullo sensibilità analitica (Panther)

La sensibilità analitica del test Aptima GC Assay è stata analizzata usando tre tipi di campioni rappresentativi: campioni di urina, campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt, tamponi vaginali e STM (come controllo). Ai pool di queste tre matrici di campioni è stato aggiunto rRNA di GC alle seguenti concentrazioni: 25 fg/test e 250 fg/test (equivalenti di rRNA di 12,5 CFU/ml e 125 CFU/ml). Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA: RNA/cellula di ciascun organismo. I pannelli sono stati analizzati su tre strumenti Panther usando due lotti di reagenti in replicati di 60. È stata calcolata la concordanza positiva con i risultati previsti. La concordanza con i risultati previsti è risultata del 100% (IC del 95%, 95,7–100%) per tutti i pannelli di urina, del 100% (IC del 95%, 95,7–100%) per tutti i pannelli di campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt, del 100% (IC del 95%, 95,7–100%) per tutti i pannelli di tampone vaginale e del 100% (IC del 95%, 96,1–100%) per tutti i pannelli di STM. La sensibilità analitica per il test è risultata di 125 CFU/ml.

Specificità analitica

Un totale di 154 isolati di coltura sono stati valutati usando il test Aptima GC. Questi isolati includevano 86 organismi che potrebbero essere isolati dal tratto urogenitale e 68 ulteriori organismi che rappresentano uno spaccato filogenetico degli organismi. Gli organismi analizzati includevano batteri, funghi, lieviti, parassiti e virus. Tutti gli organismi, ad eccezione di *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* e dei virus, sono stati analizzati a $1,0 \times 10^6$ cellule/test in mezzo di trasporto dell'urina KOVA-Trol (UTM), mentre 60 organismi sono stati analizzati in STM. Gli organismi Chlamydia e Neisseria sono stati analizzati in terreni di coltura con soluzione PreservCyt. *C. psittaci* (VR601) è stato analizzato a $8,0 \times 10^4$ cellule/test e *C. psittaci* VR125 è stato analizzato a $1,0 \times 10^5$ cellule/test. *C. pneumoniae* è stato analizzato a $4,0 \times 10^3$ cellule/test e *U. urealyticum* è stato analizzato a $6,7 \times 10^6$ cellule/test. I virus sono stati analizzati come indicato di seguito: (a) virus dell'herpes simplex I: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) virus dell'herpes simplex II: $6,0 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (c) papilloma virus umano 16: $2,9 \times 10^6$ DNA copie/test e (d) citomegalovirus: $4,8 \times 10^5$ cellule/test. L'elenco degli organismi analizzati è illustrato nella Tabella 17.

Tabella 17: Specificità analitica

Organismo	Organismo	Organismo
<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>	Virus dell'Herpes simplex I	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Virus dell'Herpes simplex II	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Virus del papilloma umano 16	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Kingella dentrificans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Bifidobacterium brevis</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 jensenii</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>	<i>N. meningitidis</i> , sierogruppo A	<i>Streptococcus mutans</i>
Cytomegalovirus	<i>N. meningitidis</i> , sierogruppo B	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>N. meningitidis</i> , sierogruppo C (4)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Derxia gummosa</i>	<i>N. meningitidis</i> , sierogruppo D	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>N. meningitidis</i> , sierogruppo Y	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>N. meningitidis</i> , sierogruppo W135	<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) = numero dei ceppi analizzati.

Tutti gli organismi analizzati hanno dato un risultato negativo nel test Aptima GC Assay.

Studio sull'equivalenza della specificità analitica

Per un test di amplificazione dell'acido nucleico, la specificità analitica rispetto agli organismi individuali è largamente determinata dalla chimica del test (per es. le sequenze oligonucleotidiche) piuttosto che dalla piattaforma. Poiché i reagenti per il test Aptima GC Assay sono identici fra il Panther System, il sistema DTS Tigris e i sistemi DTS, gli esperimenti di specificità analitica sul Panther System sono stati ideati per concentrarsi sugli isolati di coltura più problematici. Questi organismi includevano quelli noti per la loro reattività crociata in altri test di amplificazione. Venticinque (25) isolati di coltura sono stati selezionati dal pannello di organismi in Tabella 17, inclusi 17 organismi più strettamente correlati a GC. Tutti gli organismi analizzati hanno prodotto risultati negativi.

Sostanze interferenti

Le seguenti sostanze interferenti sono state aggiunte singolarmente ai campioni di tampone, ai campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt e/o ai campioni di urina: sangue al 10%, gel contraccettivo, spermicida, idratante, anestetico per emorroidi, olio per il corpo, talco, crema antimicotica, lubrificanti vaginali, spray femminili e leucociti ($1,0 \times 10^6$ cellule/ml). Le seguenti sostanze interferenti sono state aggiunte singolarmente nei campioni di urina: sangue al 30%, analiti dell'urina, proteine, glucosio, chetoni, bilirubina, nitrato, urobilinogeno, pH 4 (acido), pH 9 (alcalino), leucociti ($1,0 \times 10^6$ cellule/ml), detriti cellulari, vitamine, minerali, acetaminofene, aspirina e ibuprofene. Tutte le sostanze sono state analizzate per una potenziale interferenza con il test in assenza e in presenza di GC all'equivalente stimato di rRNA di 50 cellule di GC/test (250 fg/test). Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alla dimensione del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ciascun organismo.

Non è stata osservata alcuna interferenza con nessuna delle sostanze sottoposte ad analisi. Non sono statirilevati inibitori dell'amplificazione nel test Aptima GC Assay.

Studio sull'equivalenza delle sostanze interferenti

Il sangue riscontrato comunemente nei campioni urogenitali potrebbe interferire in alcuni test di amplificazione. Il sangue intero è stato utilizzato per stabilire il livello di interferenza del sangue sul Panther System per quanto riguarda una potenziale sostanza interferente. Sangue fresco è stato aggiunto ai pool clinici di campioni di tampone vaginale, per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt post-trattamento o di urina, e poi analizzati per la potenziale interferenza al test in presenza e in assenza di GC target. L'equivalente stimato di rRNA di 125 CFU GC/mL (250 fg/dosaggio) è stato usato come concentrazione target in quanto rappresentativa della sensibilità analitica del dosaggio. I campioni sono stati analizzati sul Panther System. Tutti i campioni contenenti acido nucleico target sono risultati positivi quando analizzati a un livello del 10% (vol/vol) di sangue nei campioni di tampone o nei campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt, e del 30% (vol/vol) di sangue nei campioni di urina. Tutti i campioni che non contenevano target sono stati identificati correttamente come negativi. Il sangue aggiunto ai campioni di tampone, campioni per pap test raccolti in soluzione PreservCyt e urina a livelli molto superiori a quelli che ci si potrebbe attendere con una normale raccolta di campioni non ha interferito con i risultati del Panther System.

Recupero

Escherichia coli, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides fragilis*, e *Staphylococcus epidermidis* ($1,0 \times 10^6$ cellule/test) sono stati aggiunti ai campioni contenenti l'equivalente di rRNA di circa 50 cellule GC (250 fg). Queste aggiunte non hanno interferito con l'amplificazione e il rilevamento di rRNA di GC durante il test Aptima GC Assay.

Studi sulla stabilità dei campioni

A. Campioni di tampone

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni di tampone endocervicale, uretrale e vaginale sono stati generati con campioni di tamponi negativi raggruppati. I campioni raggruppati sono stati addizionati con GC a una concentrazione finale di circa 50 CFU per reazione. I campioni addizionati sono stati conservati a 4 °C e 30 °C. I campioni sono stati analizzati in duplicato nei giorni 0, 20, 77, e 117. Tutte le condizioni di analisi sono risultate positive per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

B. Campioni di urina

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni di urina sono stati generati con campioni di urina femminile e maschile negativi. I campioni di urina sono stati addizionati con GC a una concentrazione finale di 100 CFU per reazione. I campioni sono stati tenuti a 30 °C per 24 ore prima di essere aggiunti al terreno di trasporto dell'urina (UTM). I campioni UTM sono stati quindi tenuti a 4 °C e 30 °C, e analizzati in triplicato nei giorni 1, 14, 32 e 35. Tutti i replicati sono risultati positivi per GC con i campioni UTM tenuti a 4 °C e 30 °C.

C. Campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt sono stati generati con campioni per Pap test liquidi negativi trattati e non trattati. Per i campioni non trattati, quattro pool di campioni in soluzione PreservCyt sono stati analizzati dopo essere stati conservati nella fiala di soluzione PreservCyt. Ciascun pool di campioni è stato addizionato con 50-100 CFU GC/test, tenuto a 2 °C, 10 °C e 30 °C, quindi analizzato a livello della linea di base e nei giorni 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 e 36. Tutti i campioni addizionati sono risultati positivi per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

Per i campioni trattati, quattro pool di campioni in soluzione PreservCyt sono stati impiegati per determinare la stabilità dei campioni trattati, a temperature comprese tra 2 °C e 30 °C. A ciascun gruppo di campioni negativi sono state aggiunte 50–100 CFU GC/test; i gruppi sono quindi stati analizzati a livello della linea di base. Prima del trattamento, i campioni in soluzione PreservCyt sono stati conservati a 30 °C per sette (7) giorni, per simulare l'intervallo di tempo tra la raccolta dei campioni, il trattamento Pap e la spedizione al laboratorio di analisi microbiologiche. Dopo sette giorni a 30 °C, aliquote da 1 ml di ciascun gruppo sono state trasferite in una provetta di trasporto del campione Aptima e analizzate a livello della linea di base, prima di essere conservate a 2 °C, 10 °C e 30 °C. I campioni trattati sono stati successivamente analizzati per 17 giorni, conservati a 30 °C, e per 36 giorni, conservati a temperature comprese tra 2 °C e 10 °C. Tutti i campioni addizionati sono risultati positivi per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

D. Ulteriore studio sulla stabilità dei campioni congelati (a -20°C)

Le condizioni di conservazione in congelamento per i campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale, di tampone vaginale, di urina femminile e di urina maschile, unitamente ai campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt in terreno di trasporto si attestano tra -20 °C e -70 °C, per consentirne l'analisi fino a 12 mesi dopo la raccolta. I dati di supporto per ciascuna tipologia di campione sono stati generati mediante l'uso di 90 campioni negativi. Di questi, 30 campioni sono stati addizionati con GC a 50 CFU per reazione, 30 campioni sono stati addizionati a 5 CFU per reazione e 30 campioni non hanno ricevuto alcuna aggiunta. I campioni in terreno di trasporto sono stati conservati congelati entro 7 giorni dalla raccolta, quindi analizzati nei giorni 200 e 400. I campioni hanno soddisfatto i criteri di accettabilità della concordanza del 95% con i risultati previsti.

Studio sulla precisione/riproducibilità

La precisione del test Aptima GC Assay è stata valutata con tre Panther System e due lotti di kit del test Aptima GC Assay in un periodo di 24 giorni. I pannelli sono stati creati aggiungendo rRNA di GC al STM alle concentrazioni illustrate nella Tabella 18. Gli operatori hanno eseguito due sessioni al giorno analizzando per ciascun elemento del pannello due replicati per sessione. È stata calcolata la concordanza con i risultati previsti ed è stata stimata la precisione secondo le Linee guida NCCLS, documento EP5-A2 (11). Per ciascun pannello sono stati usati un totale di 96 replicati. La Tabella 18 presenta i dati delle RLU di precisione in termini di Media, Deviazione Standard, Coefficiente di Variazione (CV) e concordanza percentuale con i risultati previsti e i calcoli di variabilità fra diversi strumenti, fra diversi lotti, fra diverse sessioni analitiche e in una stessa sessione.

Tabella 18: Precisione del Panther System per il test Aptima GC Assay

Matrice	GC (CFU/ml)	N	Media RLU (x 1000)	% Conc or.	Tra strumenti diversi		Tra lotti diversi		Tra diverse sessioni		Nella sessione		Totale	
					DS (x1.000)	CV (%)	DS (x1.000)	CV (%)	DS (x1.000)	CV (%)	DS (x1.000)	CV (%)	DS (x1.000)	CV (%)
STM	0	96	3	100	0	0	0	0	0	0	2,01	72,8	2	72,5
	12,5	96	3951	100	215,14	5,4	0	0	0	0	568,24	14,4	607,6	15,4
	125	95 ¹	5839	100	370,17	6,3	0	0	0	0	772,58	13,2	856,7	14,7
	1250	96	6207	100	338,25	5,4	0	0	0	0	787,64	12,7	857,2	13,8
Urina	0	95 ¹	3	100	0,69	21,6	0,81	25,5	0,77	24,2	2,43	76,3	2,8	87,8
	12,5	96	3460	100	0	0	195,84	5,7	113,27	3,3	207,53	6	307	8,9
	125	96	6047	100	158,67	2,6	170,32	2,8	0	0	206,24	3,4	311	5,1
	1250	96	6737	100	218,35	3,2	238,49	3,5	66,22	1	176,72	2,6	374,4	5,6
PreservCyt Soluzione	0	95 ¹	6	100	1,9	33,6	0	0	0,54	9,5	5,96	105,2	6,3	111,2
	12,5	96	3358	100	257,9	7,7	0	0	0	0	485,45	14,5	549,7	16,4
	125	96	5272	100	243,09	4,6	201,89	3,8	0	0	751,72	14,3	815,4	15,5
	1250	96	5945	100	355,95	6	51,06	0,9	0	0	759,35	12,8	840,2	14,1

DS = Deviazione standard; CV = Coefficiente di variazione; RLU = Unità di luce relativa.

Nota: la variabilità di alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, cosa che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola. Quando questo si verifica, DS = 0 e CV = 0%.

¹ Il valore 95 indica la presenza di 1 replicato non valido su 96, che non è stato ripetuto.

Studi sulla contaminazione crociata per il Panther System

Per stabilire che il Panther System riduce al minimo il rischio di risultati falsi positivi derivanti dalla contaminazione crociata, è stato condotto uno studio analitico di più sessioni utilizzando pannelli arricchiti su tre Panther System. La contaminazione crociata è stata valutata usando circa un 20% di campioni GC ad alto titolo frammisti a campioni negativi. Nelle sessioni sono stati inclusi raggruppamenti di campioni altamente positivi e raggruppamenti di campioni negativi, come pure singoli campioni altamente positivi collocati secondo un pattern specifico nell'ambito della sessione analitica. I campioni ad alto titolo sono stati creati aggiungendo rRNA di GC al terreno di trasporto del tampone (STM), allo scopo di ottenere una concentrazione finale di 5×10^5 fg rRNA/reazione (equivalente di rRNA di $2,5 \times 10^5$ CFU/ml). La valutazione è stata effettuata eseguendo 5 sessioni su tre sistemi Panther con un totale di 2923 campioni negativi. Il tasso di contaminazione crociata complessiva è risultato dello 0% con un intervallo di confidenza al 95% 0–0,1%. Un totale di 17 campioni negativi provenienti dalle sessioni ad alto titolo sono stati riportati come non validi e sono stati esclusi dal calcolo.

Bibliografia

1. **Centers for Disease Control and Prevention.** *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2021. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines. 70(4), July 23, 2021.
2. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, e E. R. Alexander.** 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. *NEJM* 292:1199-1205.
3. **Masi, A. T., e B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. *Semin. Arthritis Rheum.* **10**:173.
4. **Hook III, E. W. e H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal Infections in the Adult. p. 458. In K. Holmes et. al. (eds.) *Sexually Transmitted Diseases*. McGraw Hill, New York, N.Y.
5. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, e J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. *J. Clin. Microbiol.* 33:3111-3114.
6. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, e D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. *J. Clin. Microbiol.* 4:288-295.
7. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. *J. Clin. Microbiol.* **37**:386-390.
8. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrick, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen Processing and Concentration of *Chlamydia trachomatis* Added Can Influence False-Negative Rates in the LCx Assay but Not in the Aptima Combo 2 Assay When Testing for Inhibitors. *J. Clin. Microbiol.* 41:778-782.
9. **Gaydos, C. A., T. C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, e J. Schachter.** 2003. Performance of the Aptima Combo 2 Assay for Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Female Urine and Endocervical Swab Specimens. *J. Clin. Microbiol.* 41:304-309.
10. **Public Health England.** 2021. Guidance for the detection of gonorrhoea in England.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).

Recapiti e Cronologia delle revisioni



Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'assistenza tecnica e del servizio clienti specifici del Paese, visitare www.hologic.com/support.

Incidenti gravi verificatisi in relazione al dispositivo nell'Unione europea devono essere segnalati al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito.

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris e TMA sono marchi commerciali e/o marchi registrati di Hologic, Inc. e/o delle sue sussidiarie negli Stati Uniti e/o in altri Paesi.

TECAN è un marchio commerciale di Tecan Group AG.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti USA identificati nel sito www.hologic.com/patents.

© 2003-2024 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-31111-701_001 Rev. 001

07/2024

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-31111 Rev. 001	Luglio 2024	<ul style="list-style-type: none"> • Creato un documento di istruzioni per l'uso (IFU) del test APTIMA GC IVDR-conforme AW-31111 Rev. 001 per la commercializzazione (ExUS - fuori USA) utilizzando come modello il documento IFU del test APTIMA GC IVDR-conforme AW-31111 Rev. 001, lo stesso Regolamento Dispositivi Diagnostici in Vitro (IVDR) e la Regolamentazione (ExUS) in vigore. • Aggiornata la sezione SDS in base alle più recenti revisioni delle SDS. • Apportati modifiche e aggiornamenti in materia amministrativa in tutto il documento.