

Test Aptima® Chlamydia trachomatis

Návod k použití
Pro diagnostické použití *in vitro*
Pouze pro export z USA.

Obecné informace	2
Určené použití	2
Shrnutí a vysvětlení testu	2
Principy postupu	3
Souhrn údajů o bezpečnosti a klinické funkci	3
Varování a bezpečnostní opatření	3
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi	7
Odběr a skladování vzorků	8
Systém Panther	10
Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky	10
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně	11
Volitelné materiály	12
Postup testu na systému Panther	12
Poznámky k postupu	15
Interpretace testů – Výsledky kontrolních nebo patientských vzorků	17
Omezení	20
Výsledky klinických studií	22
Očekávané hodnoty	23
Prevalence	23
Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty pro míru hypotetických prevalencí v Severní Americe	24
Distribuce RLU testu Aptima CT na systému DTS	25
Klinická účinnost systému DTS	27
Studie klinického vzorku – endocervikální stěr, mužský uretrální stěr, vaginální stěr a vzorky moči	27
Klinická účinnost systému DTS	27
Distribuce RLU kontrol Aptima	37
Klinická funkčnost v systému Panther	39
Klinická studie	39
Výsledky účinnosti	39
Tabulky stavu infikovanosti – Chlamydia trachomatis	42
Distribuce RLU kontrol testu Aptima Chlamydia trachomatis	43
Studie reprodukovatelnosti	44
Shoda klinického vzorku	45
Analytická účinnost	47
Klinická studie shody s označeným panelem	47
Studie analytické citlivosti	47
Analytická specifita	47
Studie ekvivalence analytické specifity	49
Interferující látky	49
Studie ekvivalence interferujících látek	49
Výtěžnost	49
Studie přesnosti/reprodukovatelnosti	50
Studie přenosu	50
Studie stability vzorku	51
Literatura	52
Kontaktní informace a historie revizí	54

Obecné informace

Určené použití

Test Aptima® *Chlamydia trachomatis* je test s průkazem pomocí nukleové kyseliny s cílovou amplifikací, který využívá záchyt cíle a technologii transkripce zprostředkované amplifikace (TMA™) pro *in vitro* kvalitativní detekci ribozomální RNA (rRNA) z *Chlamydia trachomatis* (CT), která napomáhá při diagnostice chlamydiového urogenitálního onemocnění pomocí systému Panther®. Test lze použít k analýze následujících vzorků získaných od symptomatických i asymptomatických jedinců: lékařsky odebrané vzorky endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů z mužské uretry, pacientkou odebrané vzorky vaginálních¹ stěrů a vzorky mužské a ženské moči. Tento test je rovněž určen k testování gynekologických vzorků od symptomatických i asymptomatických pacientek odebraných do roztoku PreservCyt®.

¹Vzorky vaginálních stěrů odebrané pacientkou představují alternativní způsob screeningu žen, u kterých není indikováno pánevní vyšetření.

Shrnutí a vysvětlení testu

Infekce *Chlamydia trachomatis* jsou celosvětově jedny z nejčastějších sexuálně přenášených infekcí. Pouze ve Spojených státech amerických bylo ve střediscích pro kontrolu a prevenci nemocí (Centers for Disease Control and Prevention – CDC) v roce 2020 hlášeno odhadem 1 579 885 nových případů (481,3 případů na 100 000 obyvatel) infekcí CT (4).

Chlamydie jsou nepohyblivé, gram-negativní, obligátně intracelulární bakterie. Druh CT se skládá z patnácti sérovarů (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 a L3) způsobujících onemocnění u člověka (27). Hlavní příčinou genitálních chlamydiových infekcí u mužů a žen jsou sérovary D až K (19). *C. trachomatis* může způsobit negonokokovou uretritidu, epididymitidu, proktitidu, zánět děložního hrdla, akutní salpingitidu a zánět v ženském pohlavním ústrojí (3, 11, 21, 22). Infekce *C. trachomatis* jsou u mužů i u žen často asymptomatické. Děti narozené infikovaným matkám mají výrazně vyšší riziko inkluzní konjunktivitidy a chlamydiové pneumonie (1, 8, 20).

V minulosti bylo v klinických laboratořích použito několik metod detekce CT, včetně buněčné kultivace, přímého testování fluorescenčních protilátek, enzymové imunoanalýzy a přímého DNA testování. Novější metodiky detekce CT využívají amplifikační testy nukleových kyselin (NAAT). Buněčná kultivace byla dříve považována za „zlatý standard“ při detekci CT. Kultivace je poměrně specifická, ale publikace ukázaly, že NAAT má vyšší klinickou citlivost než kultivace (2, 7, 12, 23). Vzhledem k nižší klinické citlivosti a variabilní účinnosti mezi laboratořemi byla kultivace v mnoha laboratořích nahrazena testy NAAT.

První generace testů NAAT pro CT využívaly nedokonalé technologie, což omezilo jejich účinnost. Mezi tyto problémy patřilo těžkopádné zpracování vzorků a inhibice vzorků, což může přinést falešně negativní výsledky (5, 10, 13, 18, 24, 25, 26). Test Aptima *Chlamydia trachomatis* (Aptima CT) je druhá generace testů NAAT, která ke zjednodušení zpracování vzorků, amplifikaci cílové rRNA a detekci amplikonu využívá technologii záchytu cíle, TMA a technologii testu ochrany hybridizací (HPA).

Studie porovnávající účinnost a inhibici vzorků různých zesilovacích (amplifikačních) systémů prokázaly přínosy technologií záchytu cíle, TMA a HPA (6, 9).

Principy postupu

Vzorky se odebírají a přenášejí do příslušných transportních zkumavek. Transportní roztok v těchto zkumavkách uvolňuje cílovou rRNA a chrání ji před degradací během skladování. Když se test Aptima CT provádí v laboratoři, cílová molekula rRNA se izoluje ze vzorků za použití záchyťového oligomeru pomocí technologie záchyty cíle, která využívá magnetické mikročástice. Záchyťový oligomer obsahuje sekvenci komplementární ke specifické oblasti cílové molekuly a řetězec deoxyadenosinových zbytků. Během hybridizačního kroku se sekvencně specifická oblast záchyťového oligomeru váže na specifickou oblast cílové molekuly. Komplex záchyťového oligomeru a cíle se poté vychytá z roztoku snížením teploty reakce na pokojovou teplotu. Díky tomuto snížení teploty může proběhnout hybridizace mezi deoxyadenosinovou oblastí záchyťového oligomeru a polydeoxythymidinovými molekulami, které jsou kovalentně navázané na magnetické částice. Mikročástice, včetně zachycené cílové molekuly, která je na ně navázána, jsou pomocí magnetů přitaženy ke stranám reakční nádoby a supernatant se odsaje. Částice se promyjí, aby se odstranila zbytková matrice vzorku, která může obsahovat inhibitory amplifikační reakce. Po dokončení kroků záchyty cíle jsou vzorky připraveny k amplifikaci.

Testy amplifikace cíle jsou založeny na schopnosti komplementárních oligonukleotidových primerů specificky zesílit a umožňovat enzymatickou amplifikaci cílových řetězců nukleové kyseliny. Reakce TMA Hologic replikuje specifickou oblast 16S rRNA z CT pomocí intermediární DNA. Pro cílovou molekulu se používá unikátní sada primerů. Detekce sekvencí produktů amplifikace rRNA (amplikon) se provádí za použití hybridizace nukleových kyselin. Jednovláknová chemiluminiscenční sonda DNA, která je komplementární k oblasti cílového amplikonu, se označí molekulou akridinesteru. Označená sonda DNA se sloučí s amplikonem za vzniku stabilních hybridů RNA:DNA. Selektivní reagencie rozlišuje hybridizovanou od nehybridizované sondy, čímž eliminuje generování signálu z nehybridizované sondy. Během detekčního kroku se světlo emitované z označených hybridů RNA: DNA měří jako fotonové signály v luminometru a jsou uváděny jako relativní světelné jednotky (RLU).

Souhrn údajů o bezpečnosti a klinické funkci

Souhrn údajů o bezpečnosti a klinické funkci (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (základní UDI-DI). Chcete-li najít souhrn SSP pro test Aptima CT, hledejte jej podle základního jedinečného identifikátoru prostředku (Basic Unique Device Identifier – BUDI): 54200455DIAGAPTCTRA.

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pro profesionální použití.
- C. Před provedením testu si pečlivě přečtěte celou příbalovou informaci a *Příručku k obsluze systému Panther / Panther Fusion®*. Snížíte tak riziko výskytu neplatných výsledků.
- D. Tento test mohou používat pouze pracovníci s náležitým školením v použití testu Aptima CT a v manipulaci s potenciálně infekčními materiály. Pokud dojde k rozlítí, ihned proveďte dezinfekci pomocí vhodných postupů daného pracoviště.
- E. Další specifická varování, bezpečnostní opatření a postupy pro kontrolu kontaminace systému Panther / Panther Fusion naleznete v dokumentu *Panther / Panther Fusion System Operator's Manual* (Příručka obsluhy systému Panther / Panther Fusion).

Související s laboratoří

- F. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- G. Dodržujte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. Ve vyhrazených pracovních prostorech nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensii soupravy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranné brýle a laboratorní plášť. Po manipulaci se vzorky a reagensii soupravy si pečlivě omyjte ruce.
- H. **Varování: Dráždivá a žíravá látka:** Zabraňte styku reagensii Auto Detect 2 s kůží, očima a sliznicemi. Pokud tato kapalina přijde do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte je vodou. Pokud dojde k rozlití této kapaliny, naředte rozlitou kapalinu vodou předtím, než ji dosucha vytřete.
- I. Pracovní povrchy, pipety a další vybavení pravidelně dekontaminujte 2,5% až 3,5% (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného.
- J. Všechny materiál, který přišel do kontaktu se vzorky a reagensii, zlikvidujte v souladu s příslušnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy.
- K. Postupujte podle zásad správné praxe v molekulárních laboratořích včetně sledování prostředí. Navrhovaný protokol monitorování kontaminace laboratoří pro systém Panther naleznete v části *Poznámky k postupu*.

Související se vzorky

- L. Tento test byl testován pouze pomocí vzorků z endocervikálních stěrů a stěrů z mužské uretry, vzorků Pap stěru v roztoku PreservCyt, vzorků z vaginálních stěrů a vzorků ženské a mužské moči. Účinnost u jiných vzorků, než které jsou uvedeny v bodě *Odběr a skladování vzorků*, nebyla hodnocena.
Laboratoře mohou validovat další odběrové prostředky (14, 16).
- M. Data použitelnosti uvedená na odběrových soupravách se vztahují na místo odběru a nikoli na testovací pracoviště. Vzorky odebrané kdykoli před datem použitelnosti odběrové soupravy přepravované a uložené v souladu s příbalovou informací jsou platné pro testování i v případě, že uplyne datum použitelnosti na odběrové zkumavce.
- N. Roztok PreservCyt byl validován jako alternativní médium pro testování pomocí testu Aptima CT. Vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt, které byly zpracovány jinými přístroji než procesory ThinPrep®, nebyly pro použití hodnoceny.
- O. Po přidání moči do transportní zkumavky pro vzorek moči musí hladina kapaliny spadat mezi dvě černé indikátorové linky na štítku zkumavky. V opačném případě musí být vzorek zamítnut.
- P. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, zajistěte při přepravě vzorků vhodné podmínky skladování. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- Q. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření. Je třeba, aby vedoucí laboratoře stanovil správné postupy manipulace s jednorázovým materiálem a postupy jeho likvidace. Tento diagnostický postup smí provádět pouze personál adekvátně vyškolený v manipulaci s infekčními materiály.

- R. Při manipulaci se vzorkem zabraňte křížové kontaminaci. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby na vzorky vzájemně nedotýkaly, a použité materiály při likvidaci nepřenášejte nad otevřenými nádobami. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si rukavice.
- S. Pokud laboratoř obdrží transportní zkumavku na stěry bez tampónu, se dvěma tampóny, s čisticím tampónem nebo tampónem nedodaným společností Hologic, musí být vzorek odmítnut. Před odmítnutím transportní zkumavky bez tampónu ověřte, že se nejedná o transferovou zkumavku na vzorek Aptima®, protože tato transportní zkumavka neobsahuje tampón.
- T. Vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt odebírejte podle pokynů výrobce. Alikvoty následně odebrané z lahvičky PreservCyt k testování testem Aptima CT lze zpracovat pouze za použití soupravy Aptima® pro přenos vzorků.
- U. Za určitých podmínek může začít z uzávěru po propíchnutí transportní zkumavky Aptima vytékat tekutina. Postupujte podle pokynů uvedených v části *Postup testu na systému Panther*, abyste tomu zabránili.

Související s testem

- V. Tuto soupravu nepoužívejte po uplynutí data použitelnosti.
- W. Reagencie zavíčkujte a skladujte při uvedených teplotách. Při nesprávném skladování reagensů může být negativně ovlivněna funkční způsobilost testu. Další informace najdete v části *Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi a Postup testu na systému Panther*.
- X. Pokud nebude výslovně uvedeno jinak, nekombinujte žádné reagenty ani kapaliny testu. Nedolévejte reagenty ani kapaliny. Systém Panther ověřuje hladiny reagensů.
- Y. Zabraňte mikrobiální a ribonukleázové kontaminaci reagensů.
- Z. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagenty testu ze souprav s různými čísly šarží. Kontroly a kapaliny Aptima používané při testu mohou být z různých čísel šarží.
- AA. Některé reagenty v této sadě jsou označeny symboly s informacemi o nebezpečí.

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (SDS) EU. Pokud jde o informace pro komunikaci o nebezpečí specifickém pro váš region, viz SDS specifické pro region v knihovně bezpečnostních datových listů na stránkách www.hologicsds.com. Další informace o symbolech naleznete v legendě symbolů na adrese <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informace o nebezpečí pro EU
Amplification Reagent HEPES 25–30% H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu

	Enzyme Reagent <i>HEPES 1–5%</i> <i>TRITON X-100 1–5%</i> H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu
	Probe Reagent <i>LAURYL SULFÁT, LITHNÁ SŮL 35–40%</i> <i>KYSELINA JANTAROVÁ 10–15%</i> H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu
	Enzyme Reconstitution Solution <i>GLYCEROL 20–25%</i> <i>TRITON X-100 5–10 %</i> <i>HEPES 1–5%</i> H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu
 	Selection Reagent <i>KYSELINA BORO VÁ 0–10%</i> <i>TRITON X-100 0–10%</i> <i>HYDROXID SODNÝ 0–10%</i> Nebezpečí H315 - Dráždí kůži. H360FD - Může poškodit reprodukční schopnost. Může poškodit plod v těle matky. P264 - Po manipulaci důkladně omyjte tvář, ruce a exponované části kůže. P280 - Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P302 + P352 - PŘI STYKU S KÚŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla. P321 - Odborné ošetření (viz dodatečné pokyny týkající se první pomoci uvedené na tomto štítku). P332 + P313 - Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362 + P364 - Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte. P201 - Před použitím si obzvláště pozorně přečtěte speciální instrukce. P202 - Nepoužívejte, dokud jste si nepřečetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim. P308 + P313 - PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P405 - Skladujte uzamčené. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
	Target Capture Reagent <i>HEPES 5–10%</i> <i>EDTA 1–5%</i> <i>HYDROXID LITHNÝ, MONOHYDRÁT, 1–5%</i> H401 – Toxický pro vodní organismy. H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 - Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu

Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi

A. V následující tabulce jsou uvedeny skladovací podmínky a stabilita reagensů a kontrol:

Reagencie	Skladování v neotevřeném stavu	Otevřená souprava (po rekonstituci)	
		Skladování	Stabilita
Amplifikační reagencie	2 °C až 8 °C		
Enzymová reagencie	2 °C až 8 °C		
Reagencie sondy	2 °C až 8 °C		
Reagencie B pro záchyt cíle	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro amplifikaci	2 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	60 dní
Rekonstituční roztok pro enzymy	2 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	60 dní
Rekonstituční roztok pro sondy	2 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	60 dní
Selekční reagencie	2 °C až 30 °C	2 °C až 30 °C	
Reagencie pro záchyt cíle	15 °C až 30 °C	15 °C až 30 °C	60 dní
Pozitivní kontrola, CT / Negativní kontrola GC	2 °C až 8 °C		Jednorázová lahvička
Pozitivní kontrola GC / Negativní kontrola CT	2 °C až 8 °C		Jednorázová lahvička

- B. Pokud je selekční reagencie skladována v chladu, nechte ji před vložením do systému Panther ohřát na pokojovou teplotu.
- C. Pracovní reagencie pro záchyt cíle (wTCR) je stabilní po dobu 60 dnů, pokud je uchovávána při teplotě 15 °C až 30 °C. Chraňte před chladem.
- D. Po rekonstituci jsou enzymová reagencie, amplifikační reagencie a reagencie sondy stabilní po dobu 60 dnů, pokud jsou skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C.
- E. Jakékoli nepoužité rekonstituované reagencie a wTCR zlikvidujte po 60 dnech nebo po uplynutí data expirace hlavní šarže, podle toho, co nastane dříve.
- F. Při manipulaci s reagensy a jejich skladování zabraňte křížové kontaminaci. Před každým uložením opatřete všechny rekonstituované reagencie novým víčkem.
- G. Kontroly jsou stabilní do data vyznačeného na lahvičkách.
- H. Reagencie skladované v systému Panther jsou stabilní po dobu 72 hodin.
- I. Reagencie sondy i rekonstituovaná reagencie sondy jsou fotosenzitivní. Reagencie skladujte tak, aby byly chráněny před světlem.
- J. Při ohřátí na pokojovou teplotu se mohou některé kontrolní zkumavky zakalit nebo mohou obsahovat sraženiny. Zakalení nebo sraženiny vyskytující se u kontrol neovlivní účinnost kontroly. Kontroly mohou být použity, ať už jsou čiré, nebo zakalené / obsahují sraženiny. Pokud jsou požadovány čiré kontroly, může být rozpuštění urychleno jejich inkubací na horním konci teplotního rozmezí pro pokojovou teplotu (15 °C až 30 °C).
- K. Reagencie nezmrazujte.

Odběr a skladování vzorků

Test Aptima CT slouží k detekci přítomnosti CT ve vzorcích endocervikálních a vaginálních stěrů a mužských uretrálních stěrů odebraných lékařem, vzorcích vaginálních stěrů odebraných pacientkou, vzorcích ženské a mužské moči a vzorcích Pap v roztoku PreservCyt. Účinnost u jiných vzorků než těch, které byly odebrány následujícími soupravami pro odběr vzorků, nebyla hodnocena:

- Souprava pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest
- Souprava Aptima pro odběr vzorků ženské a mužské moči
- Souprava pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů Aptima Unisex
- Souprava pro přenos vzorků Aptima (pro použití s gynekologickými vzorky odebranými v roztoku PreservCyt)

A. Pokyny pro odběr

Pokyny pro odběr naleznete v příbalové informaci k příslušné soupravě pro odběr vzorků.

B. Přeprava a skladování vzorků před testováním

1. Stěry

- a. Odebraný stěr až do otestování přepravujte a uchovávejte v transportní zkumavce na stěry při teplotě 2 °C až 30 °C. Vzorky musejí být testovány pomocí testu Aptima CT do 60 dnů od odběru. Pokud je nutné delší skladování, zmrazte vzorky stěrů v transportní zkumavce na stěry do 7 dnů od odběru při teplotě -20 °C až -70 °C, aby bylo možné testování až do 12 měsíců po odběru (viz část *Studie stability vzorku*).

2. Vzorky moči

- a. Po sběru uchovávejte vzorek moči při teplotě 2 °C až 30 °C a do 24 hodin od sběru jej přeneste do odběrové zkumavky na vzorek moči Aptima. Do laboratoře je přepravujte v primární sběrné nádobě nebo odběrové zkumavce při teplotě 2 °C až 30 °C. Uchovávejte při teplotě 2 °C až 30 °C a zpracované vzorky moči otestujte pomocí testu Aptima CT do 30 dnů od sběru.
- b. Pokud je nutné delší skladování, zmrazte vzorky moči v transportní zkumavce pro vzorek moči Aptima do 7 dnů po odběru při teplotě -20°C až -70°C, aby bylo možné testování až do 12 měsíců po odběru (viz část *Studie stability vzorku*).

3. Vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt

- a. Vzorky Pap v roztoku PreservCyt určené k testování CT musí být zpracovány pro cytologii a/nebo přeneseny do transferové zkumavky na vzorky Aptima do 30 dnů po odběru, pokud jsou uchovávány při teplotě 2 °C až 30 °C (viz část *Studie stability vzorku*).
- b. Pokud chcete použít postup odebrání alikvotních podílů ThinPrep, postupujte podle pokynů pro odebrání alikvotních podílů uvedených v *Návodu k obsluze procesoru ThinPrep*. Přeneste 1 ml odebraného alikvotního podílu do transferové zkumavky na vzorek Aptima, přičemž postupujte podle pokynů uvedených v příbalové informaci soupravy pro přenos vzorků a roztoku pro přenos vzorků Aptima.
- c. Pokud testujete vzorek po zpracování pomocí procesoru ThinPrep, zpracujte vzorek Pap v roztoku PreservCyt v souladu s *návodem k obsluze procesoru ThinPrep* a příbalovou informací soupravy Aptima pro přenos vzorků a roztoku pro přenos vzorků. Přeneste 1,0 ml tekutiny, která zůstává v lahvičce roztoku PreservCyt, do transferové zkumavky na vzorky Aptima podle pokynů v příbalové informaci soupravy Aptima pro přenos vzorků a roztoku pro přenos vzorků.

- d. Po přenesení vzorku Pap v roztoku PreservCyt do transferové zkumavky na vzorky Aptima musíte daný vzorek otestovat testem Aptima CT do 30 dnů, pokud je skladován při teplotě od 2 °C do 8 °C, nebo do 14 dnů, pokud je skladován při teplotě od 15 °C do 30 °C. Pokud vzorek potřebujete skladovat déle, do 7 dnů od odběru jej v transferové zkumavce na vzorky Aptima zmrazte na teplotu od -20 °C do -70 °C, aby mohl být testován až 12 měsíců od odběru (viz část *Studie stability vzorku*).

C. Uchovávání vzorků po testování

1. Otestované vzorky je nutné skladovat ve stojanu ve svislé poloze.
2. Transportní zkumavky na vzorek je třeba zakrýt novým, čistým plastovým filmem nebo fóliovou bariérou.
3. Je-li nutné otestované vzorky zmrazit nebo odeslat, odstraňte z transportních zkumavek na vzorek propichovací uzávěry a nasadte na ně nové, nepropichovací nebo propichovací uzávěry. Je-li nutné vzorky odeslat k testování na jiné pracoviště, musejí se dodržet doporučené teploty. Před sejmutím uzávěru z dříve testovaných a znovu uzavřených vzorků je nutné transportní zkumavky na vzorek centrifugovat po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle 420 RCF, aby se veškerá tekutina dostala na dno zkumavky. **Zabraňte rozstříkovaní a křížové kontaminaci.**

Poznámka: Vzorky se musí přepravovat v souladu s příslušnými státními a mezinárodními přepravními předpisy.

Systém Panther

Níže jsou uvedeny reagencie testu Aptima CT pro systém Panther. Vedle názvu reagencie jsou rovněž uvedeny symboly k identifikaci reagií.

Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky

Souprava testu Aptima Chlamydia trachomatis, 100 testů (2 krabice a 1 sada kontrol)
(Kat. č. 302925)

Chlazená krabice s testem Aptima Chlamydia trachomatis (krabice 1 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství
A	Amplifikační reagencie <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
E	Enzymová reagencie <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v roztoku pufovaném HEPES obsahujícím < 10 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
P	Reagencie sondy <i>Neinfekční chemiluminiscenční sondy DNA vysušené v sukcinátem pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
TCR-B	Reagencie B pro záchyt cíle <i>Neinfekční nukleové kyseliny v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 x 0,30 ml

Krabice pro pokojovou teplotu s testem Aptima Chlamydia trachomatis (krabice 2 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 15 až 30 °C)

Symbol	Součást	Množství
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 11,9 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 6,3 ml
PR	Rekonstituční roztok pro sondy <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 x 15,2 ml
S	Selekční reagencie <i>600 mmol boritanem pufovaného roztoku obsahujícího surfaktant.</i>	1 x 43,0 ml
TCR	Reagencie pro záchyt cíle <i>Pufovaný solný roztok obsahující tuhé fáze a záchytové oligomery.</i>	1 x 26,0 ml
	Rekonstituční objímky	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list

Sada kontrol Aptima
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství
PCT/NGC	Pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC <i>Neinfekční CT nukleová kyselina v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu. Každý vzorek o objemu 400 µl obsahuje odhadovaný ekvivalent rRNA 1 CT IFU (5 fg/test*).</i>	5 x 1,7 ml
PGC/NCT	Pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT <i>Neinfekční GC nukleová kyselina v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu. Každý vzorek o objemu 400 µl obsahuje odhadovaný ekvivalent rRNA 50 buněk GC (250 fg/test*).</i>	5 x 1,7 ml

*Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA : RNA / buňky každého organismu.

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

Poznámka: Materiály dostupné od společnosti Hologic mají uvedena katalogová čísla dle seznamu, pokud není uvedeno jinak.

	<u>Kat. č.</u>
Systém Panther	303095
Systém Panther Fusion	PRD-04172
Systém Panther, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Souprava kapalin pro test Aptima Assay Fluids Kit (promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivční kapalinu a olejová reagentie Aptima)	303014 (1000 testů)
Autodetekční souprava Aptima Auto Detect Kit	303013 (1000 testů)
Jednotky s více zkumavkami (MTU)	104772-02
Souprava pytle na odpad Panther	902731
Kryt odpadního koše Panther	504405
nebo souprava pro běhy Panther (obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních nádob, kapaliny pro test a autodetekční reagentie)	303096 (5000 testů)
Špičky, 1000 µl, vodivé, detekující kapaliny, na jedno použití	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u svého zástupce.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Souprava pro transfer vzorků Aptima Specimen Transfer Kit pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt	301154C
Souprava pro přenos vzorků Aptima Specimen Transfer Kit – potiskovatelná pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt	PRD-05110
Souprava pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Souprava pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů Aptima Unisex	301041
Souprava pro odběr vzorků mužské a ženské moči Aptima	301040
Transportní zkumavky pro vzorky mužské a ženské moči Aptima	105575

Bělidlo, 5% až 8,25% (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného –	
Jednorázové rukavice	–
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy se 100 testy	–
<i>Rekonstituční roztoky pro amplifikační a enzymovou reagensii</i>	
<i>a reagensii sondy</i>	<i>CL0041 (100 víček)</i>
<i>TCR a selekční reagensie</i>	<i>501604 (100 uzávěrů)</i>

Volitelné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Sada kontrol Aptima	301110
Přídavek Hologic do bělidla pro čištění <i>pro rutinní čištění povrchů a zařízení</i>	302101
Třepačka	–

Postup testu na systému Panther

Poznámka: Další informace o provedení testovacího postupu na systému Panther naleznete v Příručce obsluhy systému Panther / Panther Fusion.

A. Příprava pracovního prostoru

1. Očistěte pracovní povrchy, kde budou připravovány reagensie a vzorky. Otřete pracovní povrchy 2,5% až 3,5% (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Nechte chlornan sodný působit na povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte povrchy stolů, na kterých budou připravovány reagensie a vzorky, čistým laboratorním absorpčním ubrusem s gumovou vrstvou.

B. Rekonstituce/příprava reagensie z nové soupravy

Poznámka: Před zahájením jakékoli práce na systému Panther je třeba provést rekonstituci reagensií.

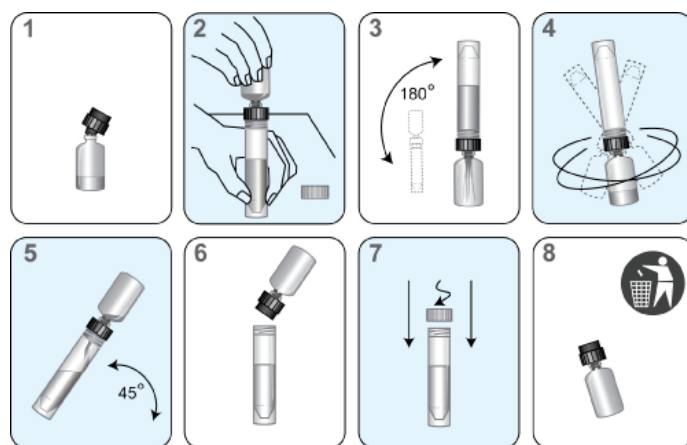
1. K rekonstituci amplifikační reagensie, enzymové reagensie a reagensie sondy smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagensií s rekonstitučním roztokem. V případě, že rekonstituované roztoky byly uloženy v chladničce, nechte je před použitím dosáhnout pokojové teploty.
 - a. Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagensií. Před připojením rekonstituční objímky se ujistěte, že rekonstituční roztoky a reagensie mají shodné barvy štítků.
 - b. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagensií.
 - c. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagensií a pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky do otvoru lahvičky (Obrázek 1, krok 1).
 - d. Otevřete odpovídající rekonstituční roztok a uzávěr položte na čistý zakrytý pracovní povrch.
 - e. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na stole a pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do otvoru v lahvičce (Obrázek 1, krok 2).

- f. Pomalu překlopte spojené lahvičky. Nechte roztok přetéct z lahvičky do skleněné lahvičky (Obrázek 1, krok 3).
- g. Roztok v lahvičce promíchejte opatrným kroužením. Při promíchávání lahvičky zabraňte tvorbě pěny. Obrázek 1, krok 4.
- h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagencie zcela rozpustí, obraťte spojené lahvičky zpět vzájemným nakloněním pod úhlem 45° , aby nedocházelo k tvorbě pěny (Obrázek 1, krok 5). Nechte veškerou tekutinu vtéci zpět do plastové lahvičky.
- i. Odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 1, krok 6).
- j. Znovu uzavřete plastovou lahvičku uzávěrem. Na štítek napište iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 1, krok 7).
- k. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 1, krok 8).

Volitelně: Další míchání amplifikačních a enzymových reagensů a reagensů sondy je možné umístěním znovu uzavřených plastových lahviček na třepačku nastavenou na mírnou rychlost a naklonění po dobu minimálně 5 minut. Ujistěte se, že jsou reagencie důkladně promíchány.

Varování: Při rekonstituci reagensů zabraňte tvorbě pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.

Varování: Dostatečné promísání reagensů je nezbytné pro dosažení požadovaných výsledků testu.



Obrázek 1. Postup rekonstituce reagensů

2. Příprava pracovní reagencie pro záchyt cíle (wTCR)
 - a. Spárujte odpovídající lahvičky TCR a TCR-B.
 - b. Zkontrolujte čísla šarže reagensů na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagensů v soupravě.
 - c. Otevřete lahvičku TCR a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - d. Otevřete lahvičku TCR-B a nalijte celý její obsah do lahvičky TCR. Malé množství roztoku zůstane v lahvičce TCR-B.
 - e. Uzavřete lahvičku s TCR a krouživými pohyby jemně promíchejte její obsah. Při tomto kroku zabraňte tvorbě pěny.
 - f. Na štítek napište iniciály obsluhy a aktuální datum.
 - g. Zlikvidujte lahvičku TCR-B a její uzávěr.

3. Příprava selekční reagentie

- Zkontrolujte číslo šarže na lahvičce s reagentiemi, abyste se ujistili, že odpovídá číslu šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže.
- Na štítek zapište iniciály obsluhy a aktuální datum.

Poznámka: Před vložením do systému všechny reagentie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny.

C. Příprava dříve rekonstituovaných reagentií

- Před zahájením testu musejí dříve rekonstituované amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy dosáhnout pokojové teploty (15 až 30 °C).

Volitelně: Rekonstituované plastové lahvičky s amplifikačních a enzymových reagentií a reagentií sondy s uzávěrem lze umístit na třepačku nastavenou na mírnou rychlost a naklopení na minimálně 25 minut, aby činidla dosáhla pokojové teploty a důkladně se promíchala.

- Pokud rekonstituovaná reagentie sondy obsahuje sraženinu, která se při pokojové teplotě nerozpustí, zahřívejte uzavřenou lahvičku při teplotě, která nepřekročí 62 °C, po dobu 1 až 2 minut. Po tomto zahřívacím kroku může být reagentie sondy použita i v případě, že v ní zůstane zbytková sraženina. Reagentii sondy promíchejte převrácením, přičemž dbejte na to, aby se před vložením do systému nevytvořila pěna.
- Před vložením reagentií do systému je všechny pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny.
- Láhve s reagentiemi nedoplňujte. Doplněné lahvičky systém Panther rozpozná a zamítne je.

Varování: Dostatečné promísení reagentií je nezbytné pro dosažení požadovaných výsledků testu.

D. Manipulace se vzorkem

- Před zpracováním nechte kontroly a vzorky dosáhnout pokojové teploty.
- Vzorky neprotřepávejte na vortexu.
- Pohledem zkontrolujte, zda všechny zkumavky na vzorky splňují jedno z následujících kritérií:
 - Přítomnost jediného růžového odběrového tampónu Aptima v transportní zkumavce pro odběr více typů stěrů.
 - Konečný objem moči mezi černými plnicími linkami transportní zkumavky pro vzorek moči.
 - Přítomnost jediného modrého odběrového tampónu Aptima v unisexové transportní zkumavce na stěry.
 - Nepřítomnost tampónu v transportní zkumavce Aptima pro vzorky Pap v roztoku PreservCyt.
- Před vložením do stojanu zkumavky se vzorky zkontrolujte:
 - Pokud zkumavka se vzorky obsahuje bubliny v prostoru mezi roztokem a uzávěrem, odstřed'ujte zkumavku 5 minut relativní odstředivou silou 420, abyste bubliny odstranili.
 - Pokud má zkumavka se vzorkem menší objem, než je typicky pozorován při dodržení pokynů k odběru, odstřed'ujte zkumavku 5 minut relativní odstředivou silou 420, abyste zajistili, že v uzávěru není kapalina.

- c. Pokud se hladina kapaliny ve zkumavce se vzorkem moči nenachází mezi dvěma černými indikátorovými linkami na štítku, musí být vzorek odmítnut. Nepropichujte přeplněnou zkumavku.
- d. Pokud zkumavka se vzorkem moči obsahuje sraženinu, zahřívejte vzorek při 37 °C po dobu až 5 minut. Pokud se sraženina nerozpustí, vizuálně ověřte, že sraženina nebude bránit dodávání vzorku.

Poznámka: Pokud nedodržíte kroky 4a–c, může z uzavěru zkumavky na vzorky vytéct kapalina.

Poznámka: Z každé zkumavky na vzorky lze otestovat až 4 samostatné alikvoty. Pokud se pokusíte pipetovat více než 4 alikvoty ze zkumavky na vzorky, může při zpracování dojít k chybě.

E. Příprava systému

1. Nastavte systém podle pokynů uvedených v *uživatelské příručce systému Panther / Panther Fusion* a v části *Poznámky k postupu*. Použijte stojany na reagentie vhodné velikosti a TCR adaptéry.
2. Vložte vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. K zajištění správného průběhu práce s APTIMA Assay Software se systémem Panther je nutný jeden pár kontrolních vzorků. Zkumavky s pozitivní kontrolou CT / negativní kontrolou GC a pozitivní kontrolou GC / negativní kontrolou CT můžete vložit do libovolné pozice na stojanu nebo do libovolné řady vzorků v systému Panther. Pipetování vzorku pacienta začne, jestliže je splněna jedna z následujících dvou podmínek:
 - a. Systém momentálně zpracovává dvojici kontrol.
 - b. V systému jsou registrovány platné výsledky těchto kontrol.
2. Jakmile byly kontrolní zkumavky napipetovány a jsou zpracovávány pro konkrétní soupravu reagentií, mohou být vzorky pacientů použity s přiřazenou soupravou reagentií testu do 24 hodin **kromě následujících výjimek**:
 - a. Výsledky kontrol jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagentií testu je ze systému vyjmuta.
 - c. Přiřazená souprava reagentií testu překročila limity stability.
3. Každá zkumavka s kontrolou Aptima může být testována jednou. Chcete-li ze zkumavky pipetovat více než jednou, může při zpracování dojít k chybě.

B. Teplota

Pokojová teplota je definována jako 15 až 30 °C.

C. Prášek z rukavic

Stejně jako u jiných systémů reagentií může nadbytek talku z rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

D. Protokol monitorování kontaminace laboratoří pro systém Panther

Existuje mnoho faktorů specifických pro laboratorní prostředí, které mohou přispět ke kontaminaci, včetně počtu prováděných testů, pracovního postupu, výskytu onemocnění a různých dalších laboratorních činností. Tyto faktory je třeba brát v úvahu při zjišťování frekvence monitorování kontaminace. Intervaly pro monitorování kontaminace je třeba stanovit na základě postupů a praxe jednotlivých laboratoří.

Ke sledování laboratorní kontaminace je možné provést následující postup pomocí soupravy pro odběr vzorků Aptima Unisex pro endocervikální a mužské vzorky z uretrálních stěrů:

1. Označte transportní zkumavky pro přenos stěrů čísly odpovídajícími oblastem, které mají být testovány.
2. Vyjměte tampón pro odběr vzorku (modrý tyčinkový tampón se zeleným potiskem) z obalu, navlhčete tampón v médiu pro transport vzorků (STM) a kruhovým pohybem proveďte stěr určené oblasti.
3. Okamžitě vložte tampón do transportní zkumavky.
4. Opatrně odlomte tyčinku tampónu v místě označení; dbejte přitom na to, aby nedošlo k rozstříknutí obsahu.
5. Transportní zkumavku pro přenos stěrů znovu pevně uzavřete.
6. Opakujte kroky 2 až 5 pro každou oblast, kde má být stěr proveden.

Pokud jsou výsledky CT pozitivní nebo nejednoznačné, viz část *Interpretace testů – Výsledky kontrolních nebo patientských vzorků*. Další informace k monitorování kontaminace specifické pro systém Panther vám na požádání poskytne technická podpora společnosti Hologic.

Interpretace testů – Výsledky kontrolních nebo patientských vzorků

A. Interpretace testu

Výsledky testu jsou automaticky interpretuje APTIMA Assay Software podle protokolu CT. Výsledek testu může být negativní, nejednoznačný, pozitivní nebo neplatný, jak je určeno celkovým RLU v detekčním kroku (viz níže). Výsledek testu může být neplatný, pokud počet RLU nespadá do normálního očekávaného rozmezí. Původní nejednoznačné a neplatné výsledky testů je třeba znovu otestovat.

Interpretace testu	Celkový počet RLU (x 1000)
Negativní	0* až < 50
Nejednoznačný	50 až < 100
Nízká RLU, pozitivní ^{1,2}	100 až < 5 000
Pozitivní ^{1,2}	5 000 až < 12 000
Neplatné	0* nebo > 12 000

*Nulový (0 x 1000) výsledek RLU ve zprávě k běhu indikuje hodnotu mezi nulou a 999 RLU. Hodnoty RLU nižší než 690 na systému Panther budou hlášeny jako neplatné.

¹V tabulce Tabulka 3 naleznete informace o distribuci RLU u výsledků. Míra RLU neudává hladinu výskytu mikroorganismu ve vzorku.

²V rozsahu slabě pozitivních hodnot je třeba data indikující pozitivitu výsledku vykládat opatrně a přihlídnout ke skutečnosti, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků může být vyšší než těch skutečně pozitivních.

B. Výsledky kontroly kvality a přijatelnost

Negativní kontrola pro CT označená jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“ a pozitivní kontrola pro CT označená jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“ fungují v tomto testu jako kontroly kroků zachytu, amplifikace a detekce cíle. V souladu s pokyny nebo požadavky oblastních předpisů nebo akreditačních organizací mohou být zahrnuty další kontroly pro lýzu buněk a stabilizaci RNA. Negativní kontrola pro CT označená jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“ obsahuje neinfekční GC rRNA. V případě potřeby lze objednat další kontroly jako sadu. Viz část *Volitelné materiály*. Správná příprava vzorků je vizuálně potvrzena přítomností jednoho stěru Aptima v transportní zkumavce na stěry, konečným objemem moči mezi černými plnicími liniemi transportní zkumavky na vzorky moči nebo nepřítomností stěru v transferové zkumavce Aptima pro přenos kapalných vzorků Pap stěrů.

Pozitivní kontroly musí generovat následující výsledky testu:

Kontrola	Celkový počet RLU (x 1000)	Výsledek CT
Pozitivní kontrola GC / negativní kontrola CT	0* a < 50	Negativní
Pozitivní kontrola CT / negativní kontrola GC	≥ 100 a < 12 000	Pozitivní

*Nulový (0 x 1000) výsledek RLU ve zprávě k běhu indikuje hodnotu mezi nulou a 999 RLU. Hodnoty RLU nižší než 690 na systému Panther budou hlášeny jako neplatné.

1. APTIMA Assay Software automaticky vyhodnocuje kontroly podle výše uvedených kritérií a hlásí stav běhu jako PASS (PROŠEL), jsou-li splněna kritéria kontroly, a FAIL (NEPROŠEL), pokud nejsou splněna kritéria kontroly běhu.
2. Pokud je stav běhu FAIL (NEPROŠEL), všechny výsledky testů v daném běhu jsou neplatné a nesmí být hlášeny.
3. Každá laboratoř by měla zavést vhodné kontrolní postupy pro splnění požadavků nařízení CLIA.
4. Negativní kontroly nemusí být účinné při sledování náhodného přenosu (carryover). Výsledky z vysoce cílené studie analýzy přenosu, která byla provedena za účelem demonstrace kontroly přenosu na systému Panther, jsou k dispozici v části *Analytická účinnost*.

C. Kontrola přípravy vzorku (volitelná)

Negativní kontrola CT označená jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“ a pozitivní kontrola pro CT označená jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“ fungují v tomto testu jako kontroly kroků zachytu, amplifikace a detekce cíle a je nutné je zahrnout do každého provedení testu. V případě potřeby lze testovat lyzu buněk a stabilizaci RNA v souladu s požadavky příslušných akreditačních organizací nebo jednotlivých laboratorních postupů. Znamé pozitivní vzorky mohou sloužit jako kontroly tím, že jsou připraveny a testovány ve spojení s neznámými vzorky. Vzorky používané jako kontroly přípravy musí být uchovávány, používány a testovány v souladu s příbalovou informací. Kontroly přípravy vzorků musí být interpretovány stejným způsobem, jaký je popsán u vzorků pacientů. Viz část *Interpretace testů – Výsledky kontrolních nebo patientských vzorků, Výsledky testů pacienta*.

D. Výsledky testů pacienta

1. Pokud kontroly v jakémkoli běhu nevedou k očekávaným výsledkům, výsledky testů vzorků pacienta ve stejném běhu nesmí být hlášeny.
2. Výsledky vzorků ze stěrů, moči a vzorků Pap v roztoku PreservCyt. Viz část *Poznámky* níže.

a. Původní výsledky

CT pos*	Pozitivní na rRNA CT.
CT neg	Předpokládaný negativní výsledek na rRNA CT.
CT nejednoznačný	Vzorek musí být znovu otestován.
Neplatné	Vzorek musí být znovu otestován.

b. Výsledky opakovaného testování

CT pos*	Pozitivní na rRNA CT.
CT neg	Předpokládaný negativní výsledek na rRNA CT.
CT nejednoznačný	Neurčité, je nutné odebrat nový vzorek.
Neplatné	Neurčité, je nutné odebrat nový vzorek.

*Do této kategorie patří pozitivní vzorky s nízkou hodnotou RLU. Viz část *Interpretace testů – Výsledky kontrolních nebo patientských vzorků* výše.

Poznámky

- První platný a jednoznačný výsledek pro každou analyzovanou látku je výsledek, který by měl být zaznamenán.
- U asymptomatických jedinců nebo jedinců z populací s nízkou prevalencí je třeba při interpretaci výsledků testu Aptima CT pečlivě zvážit data účinnosti.
- Negativní výsledek nevylučuje přítomnost infekce CT, protože výsledky jsou závislé na adekvátním odběru vzorků, nepřítomnosti inhibitorů a dostatku rRNA k detekci. Výsledky testu mohou být ovlivněny nesprávným odebráním vzorku, nesprávným skladováním vzorku, technickou chybou, promícháním vzorku nebo cílovými hladinami pod limitem detekce testu.
- Testování endocervikálního vzorku se doporučuje provést u pacientek, u nichž existuje klinické podezření na infekci chlamydií nebo gonokokem. Pokud jsou odebrány stěry vzorku Pap i endocervikální stěry, musí být vzorek Pap v roztoku PreservCyt odebrán před vzorkem endocervikálního stěru.

Omezení

- A. Test mohou používat pouze osoby vyškolené v provedení příslušných postupů. Nedodržení pokynů uvedených v této příbalové informaci povede k chybným výsledkům.
- B. Účinky používání tampónů, výplachů vaginy a proměnné odebírání vzorků nebyly hodnoceny z hlediska jejich vlivu na detekci CT.
- C. Přítomnost hlenu v endocervikálních vzorcích do detekce CT testem Aptima CT nezasahuje. Aby však byl zajištěn odběr buněk infikovaných CT, měly by být odebrány cylindrické epitelální buňky endocervixu. Není-li nadbytečný hlen odstraněn, nelze zajistit odběr vzorků těchto buněk.
- D. Odběr vzorků moči, vaginálních stěrů a vzorků Pap stěrů v roztoku PreservCyt nemá sloužit jako náhrada cervikálního vyšetření a endocervikálních vzorků při diagnostice urogenitálních infekcí u žen. Pacienti/pacientky mohou mít zánět děložního hrdla, uretritidu, infekce močových cest a vaginální infekce z jiných příčin nebo souběžné infekce s jinými infekčními činiteli.
- E. Test Aptima CT není určen k hodnocení podezření ze sexuálního zneužívání nebo pro jiné medicínsko-právní indikace.
- F. Spolehlivé výsledky jsou závislé na adekvátním odběru vzorků. Vzhledem k tomu, že transportní systém použitý pro tento test neumožňuje mikroskopické posouzení přiměřenosti vzorku, je nezbytné použít vhodné techniky odběru vzorků. Přečtěte si příbalovou informaci příslušné soupravy Aptima pro odběr vzorků.
- G. Terapeutické selhání nebo úspěch nelze v rámci testu Aptima CT určit, jelikož nukleová kyselina může přetrvávat i po vhodné antimikrobiální terapii.
- H. Výsledky testu Aptima CT je třeba interpretovat ve spojení s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které má klinický lékař k dispozici.
- I. Negativní výsledek nevylučuje možnou infekci, protože výsledky závisí na adekvátním odběru vzorků. Výsledky testu mohou být ovlivněny nesprávným odběrem vzorku, technickou chybou, záměnou vzorku nebo cílovými hladinami pod detekčním limitem testu.
- J. Test Aptima CT poskytuje kvalitativní výsledky. Proto není možné provést korelaci mezi velikostí signálu pozitivního testování a počtem organismů ve vzorku.
- K. U vaginálních stěrů, endocervikálních stěrů, mužských uretrálních stěrů a klinických studií vzorků moči je účinnost týkající se detekce CT odvozena z populací s vysokou prevalencí. Pozitivní výsledky u populací s nízkou prevalencí je nutné vykládat opatrně s přihlédnutím ke skutečnosti, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků může být vyšší než těch skutečně pozitivních.
- L. U klinických studií vzorků Pap stěru v roztoku PreservCyt je účinnost testu Aptima CT při detekci CT odvozena primárně z populací s nízkou prevalencí. Pozitivní výsledky u populací s nízkou prevalencí je však nutné vykládat opatrně s přihlédnutím ke skutečnosti, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků může být vyšší než těch skutečně pozitivních.
- M. Účinnost soupravy Aptima pro přenos vzorků nebyla vyhodnocena pro testování stejného vzorku Pap v roztoku PreservCyt před a po zpracování Pap pomocí procesoru ThinPrep.

- N. Vzorky Pap v roztoku PreservCyt, které byly zpracovány jinými přístroji než procesory ThinPrep, nebyly hodnoceny.
- O. Vzorky vaginálních stěrů odebrané pacientkou představují alternativní způsob screeningu žen, u kterých není indikováno pánevní vyšetření.
- P. Aplikace pacientem odebíraných vaginálních stěrů je omezena na zdravotnické zařízení, kde je k dispozici podpora/poradenství k vysvětlení příslušných postupů a bezpečnostních opatření.
- Q. Účinnost testu Aptima CT nebyla hodnocena u dospívajících mladších 14 let.
- R. Účinnost systému Panther nebyla vyhodnocena v nadmořských výškách nad 2000 m (6561 stop).
- S. Neexistuje žádný důkaz degradace nukleových kyselin v roztoku PreservCyt. Pokud má vzorek Pap stěru v roztoku PreservCyt malý počet buněk CT, může dojít k nerovnoměrnému rozložení tohoto buněčného materiálu. Také ve srovnání s přímým odběrem vzorků pomocí transportních médií Aptima pro stěry vede dodatečný objem roztoku PreservCyt k většímu zředění materiálu vzorku. Tyto faktory mohou ovlivnit schopnost detekovat malé množství organismů v odebraném materiálu. Pokud negativní výsledky vzorku neodpovídají klinickému obrazu, může být nutné odebrat nový vzorek.
- T. Zákazníci musí nezávisle validovat proces přenosu LIS.

Výsledky klinických studií

Účinnost testu Aptima CT byla stanovena ve třech multicentrických klinických zkouškách uskutečněných v Severní Americe. První zkouška stanovovala citlivost, specifitu a prediktivní hodnoty testu Aptima CT za použití vzorků endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů z mužské uretry odebraných lékařem, vzorků vaginálních stěrů odebraných pacientkou a vzorků mužské a ženské moči. Druhá klinická zkouška stanovila citlivost, specifitu a prediktivní hodnoty testu Aptima CT za použití roztoku PreservCyt (součást systému ThinPrep®).

První dvě klinické zkoušky ke stanovení citlivosti, specifity a prediktivních hodnot testu Aptima CT se prováděly pomocí poloautomatizovaného systému DTS®. Test byl následně převeden na plně automatizovaný systém Tigris® DTS (bez jakýchkoli změn ve formulaci testu) s využitím klinických srovnávacích studií. Na závěr byly klinické studie porovnatelnosti použity při migraci testu Aptima CT ze systému Tigris DTS na aktuálně používaný systém, kterým je systém Panther. Údaje z počátečních studií s použitím systémů DTS nebo Tigris DTS jsou zde uvedeny coby podpora stanovení funkčních vlastností testu, ačkoli současné používání těchto systémů již není výrobcem podporováno.

Ve třetí klinické zkoušce byla hodnocena klinická účinnost testu Aptima CT u sexuálně aktivních mužů a žen ve věku nejméně 14 let s příznaky pohlavně přenosných infekcí nebo bez nich. Tato studie hodnotila vzorky vaginálního stěru a moči odebrané pacientem a testované pomocí systému Panther. Tato studie hodnotila vzorky vaginálního stěru odebrané pacientem a vzorky moči testované pomocí systému Panther.

Očekávané hodnoty

Prevalence

Prevalence CT v populacích pacientů závisí na rizikových faktorech, jako je věk, pohlaví, přítomnost příznaků, typ kliniky a testovací metody. Souhrn pozitivitu CT podle typu vzorku při stanovení testem Aptima CT v systému DTS je uveden v tabulce Tabulky 1a a 1b pro čtyři multicentrické klinické zkoušky podle klinických pracovišť a celkově. Tabulka 1c shrnuje pozitivitu CT pro test Aptima CT na systému Panther stanovenou dodatečnou multicentrickou klinickou zkouškou.

Tabulka 1a: Pozitivita *C. trachomatis* podle klinického pracoviště a celkově podle výsledků testu Aptima CT na systému DTS

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

MS = uretrální stěr u mužů, **MU** = mužská moč, **FS** = ženský endocervikální stěr, **FU** = ženská moč,

PVS = vaginální stěr odebraný pacientkou, **CVS** = vaginálního stěr odebraný lékařem.

Tabulka 1b: Pozitivita *C. trachomatis* podle klinického pracoviště a celkově podle výsledků testu Aptima CT na systému DTS s použitím vzorků Pap v roztoku PreservCyt

Pracoviště	% (počet pozitivních / počet testovaných)	
1	17,0	(17/100)
2	3,2	(4/124)
3	7,4	(35/475)
4	4,2	(12/287)
5	5,4	(16/297)
6	5,5	(20/364)
Vše	6,3	(104/1647)

Tabulka 1c: Pozitivita *C. trachomatis* podle výsledků testu Aptima CT na systému Panther ve vzorcích vaginálního stěru, moči žen a moči mužů odebraných pacientem podle klinického pracoviště

Pracoviště	% (počet pozitivních / počet testovaných)		
	PVS	FU	MU
1	36,4 (8/22)	45,5 (10/22)	11,9 (21/177)
2	3,1 (12/385)	2,6 (10/385)	0,8 (3/373)
3	6,5 (5/77)	3,9 (3/77)	3,3 (2/61)
4	20,0 (1/5)	0 (0/5)	0 (0/13)
5	11,2 (29/258)	8,3 (21/253)	7,6 (31/409)
6	10,7 (53/494)	9,5 (46/484)	16,3 (50/307)
7	16,8 (42/250)	16,7 (41/246)	10,2 (23/226)
8	5,5 (6/110)	3,6 (4/111)	6,3 (2/32)
9	2,5 (8/314)	2,3 (6/260)	0,9 (2/221)
10	7,5 (19/253)	6,8 (17/251)	13,2 (12/91)
11	3,1 (3/97)	2,2 (2/92)	0 (0/54)
Vše	8,2 (186/2265)	7,3 (160/2186)	7,4 (146/1964)

FU = ženská moč, MU = mužská moč, PVS = vaginální stěr odebraný pacientkou.

Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty pro míru hypotetických prevalencí v Severní Americe

Odhadovanou pozitivní a negativní prediktivní hodnotu (PPV a NPV) pro různé míry hypotetické prevalence za použití testu Aptima CT na systému DTS uvádí Tabulka 2a. Tyto výpočty vycházejí z hodnot hypotetické prevalence a celkové citlivosti a specifity stanovených na základě infekčního stavu pacienta pro tři multicentrické klinické zkoušky. Celková citlivost a specifita testu Aptima CT na systému DTS byla 96,7 % a 96,8 % (Tabulka 2a). Skutečné hodnoty PPV a NPV pro vzorky endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů z mužské uretry odebraných lékařem, vzorky vaginálních stěrů odebraných pacientkami a vzorky mužské a ženské moči při použití testu Aptima CT na systému DTS uvádí pro každé klinické pracoviště a celkově Tabulka 6a. Skutečné hodnoty PPV a NPV pro vzorky Pap v roztoku PreservCyt při použití testu Aptima CT na systému DTS uvádí tabulka 6b.

Tabulka 2a: Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty pro hypotetické míry prevalence pro systém DTS

Hypotetická Míra prevalence (%)	Citlivost (%)	Specifita (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	96,7	96,8	23,5	100,0
2	96,7	96,8	38,3	99,9
5	96,7	96,8	61,6	99,8
10	96,7	96,8	77,2	99,6
15	96,7	96,8	84,3	99,4
20	96,7	96,8	88,4	99,2
25	96,7	96,8	91,0	98,9
30	96,7	96,8	92,9	98,6

Odhadovaná hodnota PPV a NPV testu Aptima CT na systému Panther pro různé hypotetické míry prevalence je uvedena pro každý typ vzorku v Tabulce 2b. Pro každý typ vzorku jsou odvozeny hodnoty PPV a NPV pro různé hypotetické míry prevalence pomocí odhadů celkové citlivosti a specifity z multicentrické klinické studie (viz Tabulka 8).

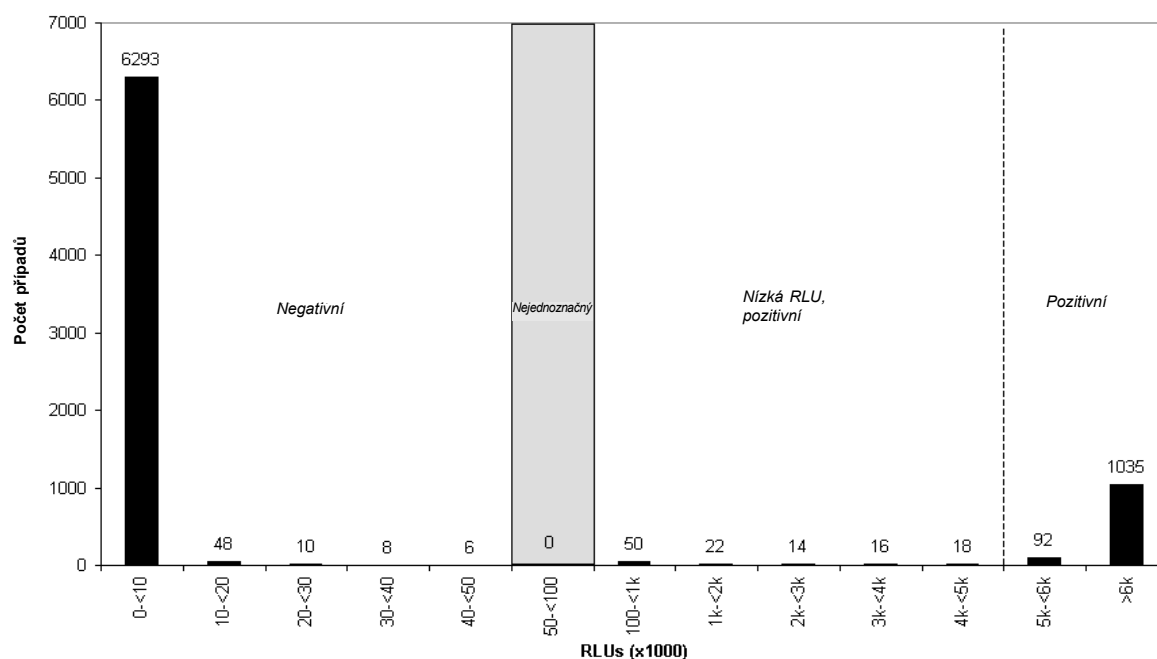
Tabulka 2b: Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty hypotetických hodnot prevalence podle typu vzorku pro systém Panther

Vzorek Typ		Hypotetická prevalence						
		1%	2%	5%	10%	15%	20%	25%
PVS	PPV (%)	66,7	80,2	91,2	95,6	97,2	98,0	98,5
	NPV (%)	100	99,9	99,7	99,5	99,1	98,8	98,4
FU	PPV (%)	69,1	81,9	92,1	96,1	97,5	98,2	98,7
	NPV (%)	100	100	99,9	99,8	99,7	99,5	99,4
MU	PPV (%)	78,4	88,0	95,0	97,6	98,4	98,9	99,2
	NPV (%)	100	100	99,9	99,8	99,8	99,7	99,5

FU = ženská moč, MU = mužská moč, NPV = negativní prediktivní hodnota, PPV = pozitivní prediktivní hodnota, PVS = vaginální stěr odebraný pacientkou.

Distribuce RLU testu Aptima CT na systému DTS

Obrázek 2 znázorňuje distribuci RLU pro test Aptima CT pro všechny vzorky endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů z mužské uretry odebraných lékařem, vzorky vaginálních stěrů odebraných pacientkami a vzorky mužské a ženské moči. Tabulka 3 udává souhrn distribuce RLU pro celkový počet pozitivních a celkový počet negativních výsledků a také počet falešně pozitivních a falešně negativních výsledků pro každý typ vzorku. U některých typů vzorků existuje tendence ke zvyšování podílu skutečně pozitivních vzorků společně s nárůstem hodnot RLU.



Obrázek 2. Frekvence distribuce RLU testu Aptima CT na systému DTS

Tabulka 3: Distribuce RLU testu Aptima CT na systému 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
Celkem Pozitivní						0	50	22	14	16	18	92	1035
Falešně pozitivních celkem						0	43	17	7	11	10	25	126
CVS						0	18	4	1	4	4	6	28
PVS						0	7	5	2	1	2	2	6
FS						0	9	2	3	2	2	5	26
MS						0	3	4	0	1	0	3	32
FU						0	5	2	0	1	0	6	12
MU						0	1	0	1	2	2	3	22
Negativních celkem						6293	48	10	8	6	0		
Falešně negativních celkem	31	1	0	1	0	0							
CVS	4	0	0	1	0	0							
PVS	1	0	0	0	0	0							
FS	3	0	0	0	0	0							
MS	4	1	0	0	0	0							
FU	10	0	0	0	0	0							
MU	9	0	0	0	0	0							

CVS = vaginální stěr odebraný lékařem, **PVS** = vaginální stěr odebraný asymptomatickou pacientkou, **FS** = ženský endocervikální stěr, **MS** = uretrální stěry od mužů; **FU** = ženská moč; **MU** = mužská moč; **RLU** = relativní světelná jednotka.
Vystínovaný sloupec označuje oblast nejednoznačných výsledků.

Klinická účinnost systému DTS

Studie klinického vzorku – endocervikální stěr, mužský uretrální stěr, vaginální stěr a vzorky moči

Vzorky endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů z mužské uretry odebraných lékařem, vzorky vaginálních stěrů odebraných pacientkami a vzorky mužské a ženské moči byly odebrány od 2 787 symptomatických a asymptomatických mužských a ženských subjektů, kteří navštěvovali klinická pracoviště pro gynekologii/porodnictví (OB/GYN), sexuálně přenosná onemocnění (STD), dospívající a plánované rodičovství na osmi zeměpisně odlišených klinických pracovištích v Severní Americe. Pacienti byli klasifikováni jako symptomatictí, pokud hlásili příznaky jako výtok, dysurie a bolest v pánevní oblasti. Subjekty, které žádné symptomy nehlásily, byly klasifikovány jako asymptomatické. Z 1 392 asymptomatických subjektů zahrnutých do studie byly 2 mladší 16 let, 237 ve věku 16 až 20 let, 423 ve věku od 21 do 25 let a 730 bylo starších 25 let. Z 1 395 symptomatických subjektů zahrnutých do studie bylo 211 ve věku 16 až 20 let, 494 ve věku od 21 do 25 let a 690 bylo starších 25 let.

Od každého z 1 322 vhodných mužských subjektů byly odebrány tři vzorky. Od každého z 1 465 vhodných ženských subjektů bylo odebráno pět vzorků. U mužských subjektů byly odebrány dva randomizované uretrální stěry a poté jeden vzorek moči. U ženských subjektů byl odebrán jeden vzorek moči a poté jeden pacientkou odebraný vaginální stěr, jeden lékařsky odebraný vaginální stěr a dva randomizované endocervikální stěry. Ze dvou vaginálních stěrů, jednoho endocervikálního stěru, jednoho stěru z mužské uretry a z alikvotu mužské a ženské moči byly získány výsledky CT testu Aptima CT a Aptima Combo 2™. Zbývající endocervikální stěr, stěr z mužské uretry a alikvot mužské a ženské moči byly testovány pomocí jiného komerčně dostupného testu NAAT. Vzorky endocervikálních stěrů a stěrů mužské uretry a vzorky mužské a ženské moči, které byly testovány v testu Aptima Combo 2 a v dalším komerčně dostupném testu NAAT, se použily jako referenční test NAAT ke stanovení infekčního stavu každého subjektu. Testování vzorků bylo provedeno buď v místě registrace subjektu, nebo v externím testovacím pracovišti.

Veškeré výpočty účinnosti byly založeny na celkovém počtu výsledků testu Aptima CT pro vzorky z endocervikálních, vaginálních a mužských uretrálních stěrů a vzorků mužské a ženské moči ve srovnání s algoritmem infekčního stavu pacienta pro každé pohlaví. V algoritmu bylo označení subjektu infekčního nebo neinfekčního CT založeno na výsledku endocervikálního stěru a vzorku moči z komerčně dostupného testu Aptima Combo 2 a dalšího komerčně dostupného testu NAAT. Subjekty byly považovány za infikované CT, pokud byly dva ze čtyř endocervikálních stěrů a vzorků moči pozitivně testovány v testu Aptima Combo 2 a dalším referenčním testem NAAT (jeden vzorek pozitivní v každém testu NAAT). Subjekty byly považovány za neinfikované, pokud byly pozitivní méně než dva referenční výsledky NAAT.

K výpočtu citlivosti a specifity bylo použito celkem 8406 výsledků testu Aptima CT. Citlivost a specifita pro CT podle pohlaví, typu vzorku a příznakovosti uvádí Tabulka 4. Tabulka 6a zobrazuje citlivost, specifitu a prediktivní hodnoty pro test Aptima CT v porovnání s infikovaným stavem pacienta pro každé klinické pracoviště a celkově. Tabulky 6b–6f shrnují počet výsledků symptomatických a asymptomatických subjektů označených jako infekční nebo neinfekční CT podle algoritmu stavu infikovanosti pacienta.

Z 2 787 registrovaných subjektů mělo 13 subjektů neznámý stav infekce CT. Subjekty byly označeny jako pacienti s neznámým stavem infekce, pokud chyběly výsledky, bez nichž nelze přesvědčivě určit stav infekce. Výsledky těchto subjektů nebyly do výpočtů účinnosti zahrnuty. Z 8452 výsledků testů Aptima CT pocházejících z multicentrické klinické studie bylo zjištěno malé procento (8, 0,09 %) vzorků, které byly při počátečním testování na CT označeny za neplatné. Při opakovaném testování nebyly zjištěny žádné nejednoznačné nebo neplatné výsledky

Tabulka 4: Citlivost a specifická testu Aptima CT vzhledem ke stavu infikovanosti pacienta, podle příznakovosti a celkově

Vzorek		Stav Stav	N	TP	FP	TN	FN	Citlivost (95 % CI)		Specificita (95 % CI)	
Muži	Stěr	Symptomatický	576	131	23 ^a	418	4	97,0	(92,6–99,2)	94,8	(92,3–96,7)
		Asymptomatický	745	90	20 ^b	634	1	98,9	(94,0–100)	96,9	(95,3–98,1)
		Vše	1321	221	43 ^c	1052	5	97,8	(94,9–99,3)	96,1	(94,7–97,1)
	Moč	Symptomatický	576	127	14 ^d	427	8	94,1	(88,7–97,4)	96,8	(94,7–98,3)
		Asymptomatický	746	90	17 ^e	638	1	98,9	(94,0–100)	97,4	(95,9–98,5)
		Vše	1322	217	31 ^f	1065	9	96,0	(92,6–98,2)	97,2	(96,0–98,1)
Ženy	Stěr	Symptomatický	807	114	28 ^g	664	1	99,1	(95,3–100)	96,0	(94,2–97,3)
		Asymptomatický	636	59	22 ^h	553	2	96,7	(88,7–99,6)	96,2	(94,3–97,6)
		Vše	1443	173	50 ⁱ	1217	3	98,3	(95,1–99,6)	96,1	(94,8–97,1)
	Moč	Symptomatický	809	107	13 ^j	682	7	93,9	(87,8–97,5)	98,1	(96,8–99,0)
		Asymptomatický	639	58	13 ^k	565	3	95,1	(86,3–99,0)	97,8	(96,2–98,8)
		Vše	1448	165	26 ^l	1247	10	94,3	(89,7–97,2)	98,0	(97,0–98,7)
Vaginální stěr	odebraný pacientkou	Asymptomatický	629	60	25 ^m	543	1	98,4	(91,2–100)	95,6	(93,6–97,1)
Vaginální stěr	odebraný lékařem	Symptomatický	811	111	33 ⁿ	663	4	96,5	(91,3–99,0)	95,3	(93,4–96,7)
		Asymptomatický	638	60	32 ^o	545	1	98,4	(91,2–99,0)	94,5	(92,3–96,2)
		Vše	1449	171	65 ^p	1208	5	97,2	(93,5–99,1)	94,9	(93,5–96,0)

TP = skutečně pozitivní, FP = falešně pozitivní, TN = skutečně negativní, FN = falešně negativní, CI = interval spolehlivosti.

Výsledky CT v testu Aptima Combo 2: počet pozitivních výsledků / počet negativních výsledků *9/23; *14/20; *23/43; *6/14; *6/17; *12/31; *14/28; *11/22; *25/50; *7/13; *5/13; *12/26; *15/25; *17/33; *15/32; *32/65.

Studie klinických vzorků – vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt

Byla provedena prospektivní multicentrická klinická studie s cílem zhodnotit použití roztoku PreservCyt (součást systému ThinPrep) jako alternativního média pro gynekologické vzorky pro detekci CT a testem Aptima CT. Během klinické studie bylo hodnoceno tisíc šest set čtyřicet sedm (1647) symptomatických a asymptomatických žen, které navštěvovaly oddělení gynekologie/porodnictví (OB/GYN), plánování rodiny, oddělení veřejného zdraví, ženské oddělení a oddělení venerologie (STD). Z 1647 hodnotitelných subjektů bylo 1288 subjektů asymptomatických a 359 pacientů bylo symptomatických. Subjekty byly registrovány na pracovištích s prevalencí CT, která ležela v rozmezí 2,8 % až 14,0 %.

Od každého vhodného subjektu byly odebrány dva vzorky: jeden vzorek Pap stěru v roztoku PreservCyt a jeden vzorek endocervikálního stěru. Vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt byly odebírány špachtlí / cytologickým kartáčkem nebo metličkovitým prostředkem pro odběr cervikálních vzorků. Tabulka 5a uvádí přehled distribuce zařízení pro odběr cervikálních vzorků na základě odběrového pracoviště a celkově.

Vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt byly zpracovány v souladu s *návodem k obsluze procesoru ThinPrep* a příbalovou informací soupravy Aptima pro přenos vzorků. Po zpracování vzorku Pap v roztoku PreservCyt pomocí procesoru ThinPrep byl vzorek převeden do soupravy Aptima pro přenos vzorků pro testování pomocí testu Aptima CT.

Citlivost a specifická testu Aptima CT pro vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt byly vypočteny porovnáním výsledků s algoritmem stavu infikovanosti pacienta. Algoritmus obsahoval výsledky testu Aptima Combo 2 a testu Aptima CT ze vzorků endocervikálních stěrů. Oba referenční testy NAAT musely být ke stanovení infikovaného stavu pacienta pozitivní. Ke stanovení neinfikovaného stavu pacienta musel být alespoň jeden referenční test NAAT negativní. Tabulka 6g shrnuje četnost výsledků testů pro obě referenční testy NAAT.

Tabulka 5b uvádí citlivost a specifiku testu Aptima CT podle příznakovosti a celkově. Celková citlivost byla 95,6% (86/90). U symptomatických a asymptomatických pacientů byla citlivost 96,7 % (29/30), resp. 95,0 % (57/60). Celková specifika byla 98,8% (1539/1557). U symptomatických a asymptomatických pacientů byla specifika 98,8% (325/329), resp. 98,9% (1214/1228).

Tabulka 6b uvádí citlivost a specifiku testu Aptima CT podle odběrného pracoviště a celkově. Citlivost se pohybovala od 92,9 % do 100 %. Specifika se pohybovala od 96,5 % do 100 %.

Tabulka 5a: Distribuce prostředků pro odběr cervikálních vzorků použitých u vzorků Pap v roztoku PreservCyt

Použitý prostředek pro odběr cervikálních vzorků	Místo klinického odběru						Celkem
	1	2	3	4	5	6	
Špachtle / cytologický kartáček	0	124	475	287	57	364	1307
Prostředek typu metlička	100	0	0	0	240	0	340

Tabulka 5b: Citlivost a specifika testu Aptima CT vzhledem ke stavu infikovanosti pacienta podle příznakovosti a celkově pro vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Vzorek	Výsledek testu Aptima CT na roztoku PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Citlivost (%) (95 % CI)	Specifika (%) (95 % CI)
Symptomatický	Pozitivní	29	0	1	3	96,7 (29/30) (82,8-99,9)	98,8 (325/329) (96,9-99,7)
	Negativní	1	3	3	319		
	Celkem	30	3	4	322		
Asymptomatický	Pozitivní	57	0	1	13	95,0 (57/60) (86,1-99,0)	98,9 (1214/1228) (98,1-99,4)
	Negativní	3	2	11	1201		
	Celkem	60	2	12	1214		
Vše	Pozitivní	86	0	2	16	95,6 (86/90) (89,0-98,8)	98,8 (1539/1557) (98,2-99,3)
	Negativní	4	5	14	1520		
	Celkem	90	5	16	1536		

CI = interval spolehlivosti.

+/+ = Pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima CT.

+/- = Pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima CT.

-/+ = Negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima CT.

-/- = Negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima CT.

Tabulka 6a: Citlivost, specifická a prediktivní hodnoty testu Aptima CT vzhledem k infikovanému stavu pacienta a podle klinického pracoviště a celkově

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

Tabulka 6a: Citlivost, specifická a prediktivní hodnoty testu Aptima CT vzhledem k infikovanému stavu pacienta a podle klinického pracoviště a celkově (pokračování)

Vzorek	Pracoviště	N	TP	FP	TN	FN	Prev. (%)	Citlivost (95 % CI)		Specificita (95 % CI)		PPV (%)	NPV (%)	
Vaginální stěr	odebraný pacientkou	1	70	14	4	52	0	20,0	100	(76,8–100)	92,9	(82,7-98,0)	77,8	100
		2	46	13	4	29	0	28,3	100	(75,3–100)	87,9	(71,8-96,6)	76,5	100
		3	45	4	2	39	0	8,9	100	(39,8–100)	95,1	(83,5-99,4)	66,7	100
		4	152	6	3	142	1	4,6	85,7	(42,1-99,6)	97,9	(94,1-99,6)	66,7	99,3
		5	130	7	3	120	0	5,4	100	(59,0–100)	97,6	(93,0-99,5)	70,0	100
		6	75	8	5	62	0	10,7	100	(63,1–100)	92,5	(83,4-97,5)	61,5	100
		7	68	5	2	61	0	7,4	100	(47,8–100)	96,8	(89,0-99,6)	71,4	100
		8	43	3	2	38	0	7,0	100	(29,2–100)	95,0	(83,1-99,4)	60,0	100
		Vše	629	60	25	543	1	9,7	98,4	(91,2–100)	95,6	(93,6-97,1)	70,6	99,8
Vaginální stěr	odebraný lékařem	1	228	36	8	184	0	15,8	100	(90,3–100)	95,8	(92,0-98,2)	81,8	100
		2	198	50	16	130	2	26,3	96,2	(86,8-99,5)	89,0	(82,8-93,6)	75,8	98,5
		3	113	9	4	100	0	8,0	100	(66,4–100)	96,2	(90,4-98,9)	69,2	100
		4	263	18	14	229	2	7,6	90,0	(68,3-98,8)	94,2	(90,5-96,8)	56,3	99,1
		5	199	13	7	179	0	6,5	100	(75,3–100)	96,2	(92,4-98,5)	65,0	100
		6	296	33	15	248	0	11,1	100	(89,4–100)	94,3	(90,8-96,8)	68,8	100
		7	102	9	0	92	1	9,8	90,0	(55,5-99,7)	100	(96,1–100)	100	98,9
		8	50	3	1	46	0	6,0	100	(29,2–100)	97,9	(88,7-99,9)	75,0	100
		Vše	1449	171	65	1208	5	12,1	97,2	(93,5-99,1)	94,9	(93,5-96,0)	72,5	99,6

TP = skutečně pozitivní; **FP** = falešně pozitivní; **TN** = skutečně negativní; **FN** = falešně negativní; **Prev** = prevalence; **PPV** = pozitivní prediktivní hodnota; **NPV** = negativní prediktivní hodnota; **N/A nebo „–“** = vzorek nebyl odebrán nebo při zkoušení nebyl dostupný.

Tabulka 6b: Citlivost, specifická a prediktivní hodnoty testu Aptima CT vzhledem ke stavu infikovanosti pacienta podle klinického pracoviště a celkově pro vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Pracoviště	Roztok PreservCyt pro test Aptima CT Výsledek	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Citlivost (%) (95% CI)	Specifická (%) (95% CI)	PPV (%)	NPV (%)
1	Pozitivní	14	0	1	2	14,0	100 (14/14) (76,8–100)	96,5 (83/86) (90,1–99,3)	82,4	100
	Negativní	0	0	0	83					
	Celkem	14	0	1	85					
2	Pozitivní	4	0	0	0	3,2	100 (4/4) (39,8–100)	100 (120/120) (97,0–100)	100	100
	Negativní	0	0	2	118					
	Celkem	4	0	2	118					
3	Pozitivní	29	0	0	6	6,5	93,5 (29/31) (78,6–99,2)	98,6 (438/444) (97,1–99,5)	82,9	99,5
	Negativní	2	0	2	436					
	Celkem	31	0	2	442					
4	Pozitivní	8	0	0	4	2,8	100 (8/8) (63,1–100)	98,6 (275/279) (96,4–99,6)	66,7	100
	Negativní	0	3	1	271					
	Celkem	8	3	1	275					
5	Pozitivní	13	0	0	3	4,7	92,9 (13/14) (66,1–99,8)	98,9 (280/283) (96,9–99,8)	81,3	99,6
	Negativní	1	1	4	275					
	Celkem	14	1	4	278					
6	Pozitivní	18	0	1	1	5,2	94,7 (18/19) (74,0–99,9)	99,4 (343/345) (97,9–99,9)	90,0	99,7
	Negativní	1	1	5	337					
	Celkem	19	1	6	338					
Vše	Pozitivní	86	0	2	16	5,5	95,6 (86/90) (89,0–98,8)	98,8 (1539/ 1557) (98,2–99,3)	82,7	99,7
	Negativní	4	5	14	1520					
	Celkem	90	5	16	1536					

CI = interval spolehlivosti; **Prev** = prevalence; **PPV** = pozitivní prediktivní hodnota; **NPV** = negativní prediktivní hodnota.

+/+ = Pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima CT.

+/- = Pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima CT.

-/+ = Negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima CT.

-/- = Negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima CT.

Tabulka 6c: Výsledky mužských uretrálních stěrů a moči od subjektů infikovaných nebo neinfikovaných *C. trachomatis* podle stavu infikovanosti pacienta

Stav infikovanosti pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT		Příznakovost		Celkem
	MS	MU	MS	MU	MS	MU	Symptomatický	Asymptomatický	
Infikován	+	+	+	+	+	+	96	68	164
Infikován	+	+	+	+	+	–	5	1	6
Infikován	+	+	+	–	+	+	11	7	18
Infikován	+	+	–	+	+	+	13	11	24
Infikován	+	+	–	+	+	–	1	0	1
Infikován	+	+	–	+	–	+	1	0	1
Infikován	+	–	+	+	+	+	2	0	2
Infikován	+	–	+	+	+	–	1	0	1
Infikován	+	–	+	–	+	–	1	0	1
Infikován	–	+	+	+	+	+	1	0	1
Infikován	–	+	–	+	+	+	0	2	2
Infikován	–	+	–	+	–	+	3	1	4
Infikován	–	+	=	+	+	+	0	1	1
Neinfikován	+	+	–	–	+	+	4	4	8
Neinfikován	+	+	–	–	–	+	1	0	1
Neinfikován	+	–	–	–	+	+	1	4	5
Neinfikován	+	–	–	–	+	–	4	6	10
Neinfikován	+	–	–	–	–	+	1	0	1
Neinfikován	+	–	–	–	–	–	3	0	3
Neinfikován	–	+	–	–	+	+	1	0	1
Neinfikován	–	+	–	–	–	+	0	2	2
Neinfikován	–	+	–	–	–	–	1	0	1
Neinfikován	–	–	+	+	+	+	1	0	1
Neinfikován	–	–	–	+	–	–	2	2	4
Neinfikován	–	–	–	–	+	+	1	1	2
Neinfikován	–	–	–	–	+	–	11	5	16
Neinfikován	–	–	–	–	–	+	4	4	8
Neinfikován	–	–	–	–	–	–	403	618	1021
Neinfikován	–	–	–	N/A	–	+	0	2	2
Neinfikován	–	–	–	N/A	–	–	1	2	3
Neinfikován	–	–	–	=	–	–	0	4	4
Neinfikován	–	–	=	–	–	–	2	0	2
Neinfikován	N/A	–	–	–	N/A	–	0	1	1
Celkem							576	746	1322

N/A = vzorky nebyly získány nebo nebyly dostupné pro testování. Symbol rovnítka (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitelný výsledek při opakovaném testování.

MS = uretrální stěr od mužů, **MU** = mužská moč.

Tabulka 6d: Výsledky ženských endocervikálních stěrů a moči od subjektů infikovaných nebo neinfikovaných *C. trachomatis* podle stavu infikovanosti pacienta

Stav infikovanosti pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT		Příznakovost		Celkem
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Symptomatický	Asymptomatický	
Infikován	+	+	+	+	+	+	80	43	123
Infikován	+	+	+	+	+	–	1	1	2
Infikován	+	+	+	–	+	+	10	5	15
Infikován	+	+	+	=	+	+	1	0	1
Infikován	+	+	–	+	+	+	9	3	12
Infikován	+	–	+	+	+	+	3	1	4
Infikován	+	–	+	+	+	–	2	2	4
Infikován	+	–	+	–	+	+	2	0	2
Infikován	+	–	+	–	+	–	4	0	4
Infikován	+	–	+	–	+	N/A	1	0	1
Infikován	–	+	+	+	+	+	0	1	1
Infikován	–	+	–	+	+	+	1	3	4
Infikován	–	+	–	+	–	+	1	2	3
Neinfikován	+	+	–	–	+	+	1	2	3
Neinfikován	+	+	–	N/A	+	+	1	0	1
Neinfikován	+	–	–	–	+	+	0	2	2
Neinfikován	+	–	–	–	+	–	12	7	19
Neinfikován	+	–	–	–	–	–	0	1	1
Neinfikován	–	+	–	–	+	+	1	0	1
Neinfikován	–	+	–	–	–	+	4	3	7
Neinfikován	–	+	–	–	–	–	0	1	1
Neinfikován	–	–	+	–	–	–	1	1	2
Neinfikován	–	–	–	+	–	–	1	2	3
Neinfikován	–	–	–	–	+	+	0	2	2
Neinfikován	–	–	–	–	+	–	11	9	20
Neinfikován	–	–	–	–	–	+	5	4	9
Neinfikován	–	–	–	–	–	–	636	526	1162
Neinfikován	–	–	–	–	–	N/A	1	0	1
Neinfikován	–	–	–	N/A	–	–	2	3	5
Neinfikován	–	–	–	=	–	–	12	10	22
Neinfikován	–	–	=	–	–	–	1	1	2
Neinfikován	–	N/A	–	–	–	N/A	1	1	2
Neinfikován	N/A	–	–	–	N/A	–	5	4	9
Neinfikován	=	–	–	–	+	+	1	0	1
Neinfikován	=	–	–	–	+	–	1	0	1
Celkem							812	640	1452

N/A = vzorky nebyly získány nebo nebyly dostupné pro testování. Symbol rovnítko (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitelný výsledek při opakovaném testování.

FS = ženský endocervikální stěr, **FU** = ženská moč.

Tabulka 6e: Výsledky vaginálních stěrů odebraných asymptomatickou pacientkou od subjektů infikovaných nebo neinfikovaných *C. trachomatis* podle stavu infikovanosti pacienta

Stav infikovanosti pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT	Celkem
	FS	FU	FS	FU	PVS	
Infikován	+	+	+	+	+	44
Infikován	+	+	+	–	+	5
Infikován	+	+	–	+	+	3
Infikován	+	–	+	+	+	3
Infikován	–	+	+	+	+	1
Infikován	–	+	–	+	+	4
Infikován	–	+	–	+	–	1
Neinfikován	+	+	–	–	+	2
Neinfikován	+	–	–	–	+	4
Neinfikován	+	–	–	–	+	1
Neinfikován	+	–	–	–	–	2
Neinfikován	+	–	–	–	–	3
Neinfikován	–	+	–	–	+	2
Neinfikován	–	+	–	–	–	2
Neinfikován	–	–	+	–	–	1
Neinfikován	–	–	–	+	–	2
Neinfikován	–	–	–	–	+	5
Neinfikován	–	–	–	–	+	10
Neinfikován	–	–	–	–	–	15
Neinfikován	–	–	–	–	–	500
Neinfikován	–	–	–	–	–	1
Neinfikován	–	–	–	–	N/A	1
Neinfikován	–	–	–	–	N/A	9
Neinfikován	–	–	–	N/A	–	2
Neinfikován	–	–	–	N/A	N/A	1
Neinfikován	–	–	–	=	–	1
Neinfikován	–	–	–	=	–	8
Neinfikován	–	–	–	=	–	1
Neinfikován	–	–	=	–	–	1
Neinfikován	–	N/A	–	–	–	1
Neinfikován	N/A	–	–	–	+	1
Neinfikován	N/A	–	–	–	–	3
Celkem						640

N/A = vzorky nebyly získány nebo nebyly dostupné pro testování. Symbol rovnítka (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitelný výsledek při opakovaném testování.

FS = ženský endocervikální stěr; **FU** = ženská moč; **PVS** = vaginální stěr odebraný asymptomatickou pacientkou.

Tabulka 6f: Výsledky vaginálních stěrů odebraných lékařem od subjektů infikovaných nebo neinfikovaných *C. trachomatis* podle stavu infikovanosti pacienta

Stav infikovanosti pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT	Příznakovost		Celkem
	FS	FU	FS	FU	CVS	Symptomatický	Asymptomatický	
Infikován	+	+	+	+	+	76	44	120
Infikován	+	+	+	+	–	2	0	2
Infikován	+	+	+	+	+	2	0	2
Infikován	+	+	+	+	+	1	0	1
Infikován	+	+	+	–	+	8	5	13
Infikován	+	+	+	–	–	1	0	1
Infikován	+	+	+	–	+	1	0	1
Infikován	+	+	+	=	+	1	0	1
Infikován	+	+	–	+	+	9	3	12
Infikován	+	–	+	+	+	5	3	8
Infikován	+	–	+	–	+	7	0	7
Infikován	–	+	+	+	+	0	1	1
Infikován	–	+	–	+	+	1	4	5
Infikován	–	+	–	+	–	1	0	1
Infikován	–	+	–	+	–	0	1	1
Neinfikován	+	+	–	–	+	1	2	3
Neinfikován	+	+	–	N/A	+	1	0	1
Neinfikován	+	–	–	–	+	3	4	7
Neinfikován	+	–	–	–	–	0	1	1
Neinfikován	+	–	–	–	+	2	2	4
Neinfikován	+	–	–	–	–	5	3	8
Neinfikován	+	–	–	–	+	1	0	1
Neinfikován	+	–	–	–	–	1	0	1
Neinfikován	–	+	–	–	+	5	2	7
Neinfikován	–	+	–	–	–	0	2	2
Neinfikován	–	–	+	–	–	1	1	2
Neinfikován	–	–	–	+	–	1	2	3
Neinfikován	–	–	–	–	+	4	5	9
Neinfikován	–	–	–	–	–	6	10	16
Neinfikován	–	–	–	–	+	16	15	31
Neinfikován	–	–	–	–	–	614	500	1114
Neinfikován	–	–	–	–	N/A	0	1	1
Neinfikován	–	–	–	–	+	0	1	1
Neinfikován	–	–	–	–	–	13	9	22
Neinfikován	–	–	–	N/A	–	2	2	4
Neinfikován	–	–	–	N/A	–	0	1	1
Neinfikován	–	–	–	=	+	0	1	1
Neinfikován	–	–	–	=	–	12	8	20
Neinfikován	–	–	–	=	N/A	0	1	1
Neinfikován	–	–	=	–	–	1	1	2
Neinfikován	–	N/A	–	–	–	0	1	1

Tabulka 6f: Výsledky vaginálních stěrů odebraných lékařem od subjektů infikovaných nebo neinfikovaných *C. trachomatis* podle stavu infikovanosti pacienta (pokračování)

Stav infikovanosti pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT	Příznakovost		Celkem
	FS	FU	FS	FU	CVS	Symptomatický	Asymptomatický	
Neinfikován	–	N/A	–	–	N/A	1	0	1
Neinfikován	N/A	–	–	–	–	0	1	1
Neinfikován	N/A	–	–	–	–	5	3	8
Neinfikován	=	–	–	–	–	2	0	2
Celkem						812	640	1452

N/A = vzorky nebyly získány nebo nebyly dostupné pro testování. Symbol rovnítka (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitelný výsledek při opakovaném testování.

FS = ženský endocervikální stěr; FU = ženská moč; CVS = vaginální stěr odebraný lékařem.

Tabulka 6g: Klinická studie PreservCyt Solution (výsledky pro infikovaný stav ze vzorků endocervikálního stěru)

Stav infikovanosti pacienta	Endocervikální stěr		Příznakovost	
	Test Aptima Combo 2	Test Aptima CT	Symptomatický	Asymptomatický
Infikován	Pozitivní	Pozitivní	30	60
Neinfikován	Negativní	Negativní	322	1214
Neinfikován	Negativní	Pozitivní	4	12
Neinfikován	Pozitivní	Negativní	3	2
Celkem			359	1288

Distribuce RLU kontrol Aptima

Tabulka 7 uvádí distribuci RLU pro Aptima – pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT a Aptima – pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC ze všech testů Aptima CT probíhajících během studie klinických vzorků.

Tabulka 7: Distribuce RLU pro kontroly Aptima během studií klinických vzorků včetně endocervikálních a vaginálních stěrů, stěrů z mužské uretry a vzorků mužské a ženské moči a studií se vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt

Kontrola	Statistika	RLU (x 1000)	
		Klinická studie se stěry a vzorky moči	Klinická studie se vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt
Pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT	N	198	209
	Průměr	0,89	1,22
	SD	2,94	2,63
	Maximum	26	36
	75. percentil	1	1
	Medián	0	1
	25. percentil	0	1

Tabulka 7: Distribuce RLU pro kontroly Aptima během studií klinických vzorků včetně endocervikálních a vaginálních stěrů, stěrů z mužské uretry a vzorků mužské a ženské moči a studií se vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt (pokračování)

Kontrola	Statistika	RLU (x 1000)	
		Klinická studie se stěry a vzorky moči	Klinická studie se vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt
Pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC	N	198	209
	Průměr	7007	6593
	SD	776	709
	Maximum	8884	10383
	75. percentil	7440	7025
	Medián	7066	6661
	25. percentil	6621	6205
	Minimum	988	4419

SD = směrodatná odchylka; CV% = variační koeficient, RLU = relativní luminiscenční jednotka.

Poznámka: Základem pro analýzu byla hodnota RLU hlášená softwarem. Hlášená hodnota RLU je celkový naměřený počet RLU vydělený 1000 s vypuštěním číslic za desetinnou čárkou.

Klinická funkčnost v systému Panther

Klinická studie

Byla provedena prospektivní multicentrická klinická studie hodnotící charakteristiky účinnosti testu Aptima CT v systému Panther. Vzorky byly odebrány od 4413 symptomatických a asymptomatických žen a mužů zařazených v rámci 11 geograficky a etnicky odlišných amerických klinických pracovišť, včetně klinik porodnictví a gynekologie, plánování rodičovství a sexuálně přenosných chorob. Subjekty, které hlásily nějaké symptomy, byly klasifikovány jako symptomatické. Subjekty, které žádné symptomy nehlásily, byly klasifikovány jako asymptomatické. Sto šedesát šest (166) zařazených subjektů nebylo možné vyhodnotit (28 bylo vyřazeno a 138 nemělo alespoň jeden vzorek s platným nevyřazeným výsledkem testu Aptima CT a průkazným stavem infikovanosti). Ze 4247 hodnotitelných subjektů bylo 2283 žen a 1964 mužů. Průměrný věk hodnocených subjektů studie byl 34,5 roku (rozmezí = 14 až 84 let). Příznaky byly hlášeny u 45,7 % (1939/4247) hodnocených subjektů.

Od každé hodnocené ženy bylo odebráno až 5 vzorků (4 vaginální stěry odebrané pacientkou, 1 vzorek moči z prvního zachytu) a od každého hodnoceného muže byl odebrán 1 vzorek moči z prvního zachytu. Všechny vzorky byly jednotlivými subjekty odebrány na klinických pracovištích.

Vzorky byly testovány pomocí testu Aptima CT na systému Panther. Vzorky, které zpočátku v testu Aptima CT vykazovaly nejednoznačné nebo neplatné výsledky nebo u nich došlo k chybám při zpracování přístrojem, byly testovány znovu, pokud to objem umožňoval; platné výsledky opakovaných testů byly zahrnuty do analýz účinnosti. Vaginální stěry odebrané pacientkami a vzorky moči mužů a žen byly testovány až třemi NAAT schválenými FDA, aby se stanovil stav infikovanosti pacienta (PIS) specifický pro daný vzorek, a to následujícím způsobem:

- PIS pro mužskou moč byl zjištěn ze vzorků mužské moči
- PIS pro ženskou moč byl zjištěn ze vzorků ženské moči
- PIS pro vaginální stěr byl zjištěn ze vzorků vaginálního stěru a ženské moči

Účinnost testu Aptima CT byla stanovena ve vztahu k PIS specifickému pro jednotlivé typy vzorků.

Ze všech odebraných vzorků bylo 6592 vzorků zpracováno v platných testech Aptima CT, včetně 213 vzorků (3,2 %), které musely být znovu testovány z důvodu neplatných výsledků. Celkem 6561 (99,5 %) vzorků mělo konečné platné výsledky a 31 (0,5 %) vzorků mělo konečné neplatné výsledky a byly z analýz vyloučeny. Do analýz porovnávajících výsledky testu Aptima CT s PIS bylo zahrnuto celkem 6415 vzorků od 4247 hodnotitelných subjektů: Z toho bylo 2265 vzorků vaginálního stěru odebraného pacientkou, 2186 vzorků ženské moči a 1964 vzorků mužské moči.

Výsledky účinnosti

Charakteristiky účinnosti testu Aptima CT byly stanoveny pro každý typ vzorku. Tabulka 8 uvádí citlivost, specifitu, PPV a NPV testu Aptima CT v systému Panther a prevalenci druhu *C. trachomatis* (na základě PIS specifického pro daný typ vzorku) u jednotlivých typů vzorků podle příznakovosti a celkově.

Tabulka 8: Charakteristiky účinnosti testu Aptima CT podle příznakovosti

Vzorek Typ	Stav Stav	N	TP	FP ¹	TN	FN ²	Prev %	Citlivost (95% CI) ³	Specifická (95% CI) ³	PPV, % (95% CI) ⁴	NPV, % (95% CI) ⁴
PVS	Vše	2265	176	10	2070	9	8,2	95,1 (91,0, 97,4)	99,5 (99,1, 99,7)	94,6 (91,0, 97,6)	99,6 (99,3, 99,8)
	Sym	1102	89	6 ^a	1001	6 ^a	8,6	93,7 (86,9, 97,1)	99,4 (98,7, 99,7)	93,7 (88,4, 98,0)	99,4 (98,9, 99,8)
	Asym	1163	87	4 ^b	1069	3 ^b	7,7	96,7 (90,7, 98,9)	99,6 (99,0, 99,9)	95,6 (91,0, 99,0)	99,7 (99,3, 100)
FU	Vše	2186	151	9	2023	3	7,0	98,1 (94,4, 99,3)	99,6 (99,2, 99,8)	94,4 (90,7, 97,6)	99,9 (99,7, 100)
	Sym	1050	74	7 ^c	968	1 ^c	7,1	98,7 (92,8, 99,8)	99,3 (98,5, 99,7)	91,4 (84,8, 96,7)	99,9 (99,7, 100)
	Asym	1136	77	2 ^d	1055	2 ^d	7,0	97,5 (91,2, 99,3)	99,8 (99,3, 99,9)	97,5 (93,6, 100)	99,8 (99,5, 100)
MU	Vše	1964	141	5	1816	2	7,3	98,6 (95,0, 99,6)	99,7 (99,4, 99,9)	96,6 (93,4, 99,3)	99,9 (99,7, 100)
	Sym	828	85	4 ^e	738	1 ^e	10,4	98,8 (93,7, 99,8)	99,5 (98,6, 99,8)	95,5 (90,8, 99,0)	99,9 (99,6, 100)
	Asym	1136	56	1 ^f	1078	1 ^f	5,0	98,2 (90,7, 99,7)	99,9 (99,5, 100)	98,2 (94,0, 100)	99,9 (99,7, 100)

Asym = asymptomatický, **CI** = interval spolehlivosti; **FN** = falešně negativní; **FP** = falešně pozitivní; **FU** = ženská moč; **MU** = mužská moč, **Prev** = prevalence, **PVS** = vaginální výtěr odebraný pacientkou, **Sym** = symptomatický; **TN** = skutečně negativní; **TP** = skutečně pozitivní; **PPV** = pozitivní prediktivní hodnota; **NPV** = negativní prediktivní hodnota.

¹Pokud není uvedeno jinak, byly vzorky stejného typu testovány také alternativním NAAT testem pro *C. trachomatis* s následujícími výsledky (počet pozitivních výsledků / počet testovaných vzorků): ^a1/6, ^b1/4, ^c2/7, ^d0/2, ^e0/4, ^f0/1.

²Pokud není uvedeno jinak, byly vzorky stejného typu testovány také alternativním NAAT testem pro *C. trachomatis* s následujícími výsledky (počet negativních výsledků / počet testovaných vzorků): ^a1/6, ^b1/3, ^c1/1, ^d2/2, ^e1/1, ^f0/1.

³Hodnota CI.

⁴CI percentilu na základě bootstrapové metody s 2000 iteracemi.

Tabulka 9 uvádí citlivost, specifitu, PPV a NPV testu Aptima CT v systému Panther a prevalenci druhu *C. trachomatis* (na základě PIS specifického pro daný typ vzorku) u jednotlivých typů vzorků podle odběrného místa. Prevalence se podle očekávání v různých odběrových místech lišila.

Tabulka 9: Charakteristiky účinnosti testu Aptima CT podle odběrového místa

Vzorek Typ	Pracoviště	N	TP	FP	TN	FN	Prev %	Citlivost % (95% CI) ¹	Specifická % (95% CI) ¹	PPV, % (95% CI) ²	NPV, % (95% CI) ²
PVS	1	22	8	0	13	1	40,9	88,9 (56,5; 98,0)	100 (77,2; 100)	100 (NC)	92,9 (78,6; 100)
	2	385	12	0	373	0	3,1	100 (75,8; 100)	100 (99,0; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	3	77	5	0	72	0	6,5	100 (56,6; 100)	100 (94,9; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	4	5	1	0	4	0	20,0	100 (20,7; 100)	100 (51,0; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	5	258	26	3	229	0	10,1	100 (87,1; 100)	98,7 (96,3; 99,6)	89,7 (77,4; 100)	100 (NC)
	6	494	50	3	439	2	10,5	96,2 (87,0; 98,9)	99,3 (98,0; 99,8)	94,3 (87,5; 100)	99,5 (98,8; 100)
	7	250	42	0	206	2	17,6	95,5 (84,9; 98,7)	100 (98,2; 100)	100 (NC)	99,0 (97,5; 100)
	8	110	5	1	104	0	4,5	100 (56,6; 100)	99,0 (94,8; 99,8)	83,3 (50,0; 100)	100 (NC)
	9	314	8	0	304	2	3,2	80,0 (49,0; 94,3)	100 (98,8; 100)	100 (NC)	99,3 (98,4; 100)
	10	253	17	2	232	2	7,5	89,5 (68,6; 97,1)	99,1 (96,9; 99,8)	89,5 (72,5; 100)	99,1 (97,8; 100)
	11	97	2	1	94	0	2,1	100 (34,2; 100)	98,9 (94,3; 99,8)	66,7 (0,0; 100)	100 (NC)

Tabulka 9: Charakteristiky účinnosti testu Aptima CT podle odběrového místa

Vzorek Typ	Pracoviště	N	TP	FP	TN	FN	Prev %	Citlivost % (95% CI) ¹	Specificita % (95% CI) ¹	PPV, % (95% CI) ²	NPV, % (95% CI) ²
FU	1	22	9	1	12	0	40,9	100 (70,1; 100)	92,3 (66,7; 98,6)	90,0 (66,7; 100)	100 (NC)
	2	385	9	1	375	0	2,3	100 (70,1; 100)	99,7 (98,5; 100)	90,0 (66,7; 100)	100 (NC)
	3	77	3	0	74	0	3,9	100 (43,9; 100)	100 (95,1; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	4	5	0	0	5	0	0,0	NC	100 (56,6; 100)	NC	100 (NC)
	5	253	19	2	231	1	7,9	95,0 (76,4; 99,1)	99,1 (96,9; 99,8)	90,5 (76,5; 100)	99,6 (98,7; 100)
	6	484	44	2	436	2	9,5	95,7 (85,5; 98,8)	99,5 (98,4; 99,9)	95,7 (88,9; 100)	99,5 (98,8; 100)
	7	246	40	1	205	0	16,3	100 (91,2; 100)	99,5 (97,3; 99,9)	97,6 (91,9; 100)	100 (NC)
	8	111	4	0	107	0	3,6	100 (51,0; 100)	100 (96,5; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	9	260	6	0	254	0	2,3	100 (61,0; 100)	100 (98,5; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	10	251	15	2	234	0	6,0	100 (79,6; 100)	99,2 (97,0; 99,8)	88,2 (70,3; 100)	100 (NC)
	11	92	2	0	90	0	2,2	100 (34,2; 100)	100 (95,9; 100)	100 (NC)	100 (NC)
MU	1	177	20	1	156	0	11,3	100 (83,9; 100)	99,4 (96,5; 99,9)	95,2 (83,3; 100)	100 (NC)
	2	373	3	0	370	0	0,8	100 (43,9; 100)	100 (99,0; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	3	61	2	0	59	0	3,3	100 (34,2; 100)	100 (93,9; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	4	13	0	0	13	0	0,0	NC	100 (77,2; 100)	NC	100 (NC)
	5	409	30	1	378	0	7,3	100 (88,6; 100)	99,7 (98,5; 100)	96,8 (88,9; 100)	100 (NC)
	6	307	48	2	255	2	16,3	96,0 (86,5; 98,9)	99,2 (97,2; 99,8)	96,0 (89,7; 100)	99,2 (98,0; 100)
	7	226	23	0	203	0	10,2	100 (85,7; 100)	100 (98,1; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	8	32	2	0	30	0	6,3	100 (34,2; 100)	100 (88,6; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	9	221	1	1	219	0	0,5	100 (20,7; 100)	99,5 (97,5; 99,9)	50,0 (0,0; 100)	100 (NC)
	10	91	12	0	79	0	13,2	100 (75,8; 100)	100 (95,4; 100)	100 (NC)	100 (NC)
	11	54	0	0	54	0	0,0	NC	100 (93,4; 100)	NC	100 (NC)

CI = interval spolehlivosti, FN = falešně negativní, FP = falešně pozitivní, FU = ženská moč, MU = mužská moč, NC = nelze vypočítat, Prev = prevalence, PVS = vaginální výtěr odebraný pacientkou, TN = skutečně negativní, TP = skutečně pozitivní; PPV = pozitivní prediktivní hodnota; NPV = negativní prediktivní hodnota.

¹Hodnota CI.

²CI percentilu na základě bootstrapové metody s 2000 iteracemi. U některých odběrných míst nelze statistiku v některých bootstrapových vzorcích vypočítat kvůli nulovému jmenovateli; CI percentilu se vypočítá pomocí bootstrapových vzorků, pro které lze statistiku vypočítat. Pokud nelze statistiku vypočítat pro žádný z bootstrapových vzorků nebo pokud je statistická hodnota konstantní ve všech bootstrapových vzorcích, v nichž lze statistiku vypočítat, je u 95% CI pro percentil bootstrapu uvedeno NC.

Tabulky stavu infikovanosti – Chlamydia trachomatis

Frekvence výsledků referenčního testu NAAT a hodnoceného testování systému Panther shrnuje Tabulka 10a a Tabulka 10b.

Tabulka 10a: Stav infikovanosti *C. trachomatis* u vzorků ženské moči a vzorků mužské moči

Vzorek Typ	Pacient infikován Stav	NAAT 1	NAAT 2	NAAT 3	Test ACT	Příznakovost	
						Symptomatický	Asymptomatický
FU	Infikován	+	+	N/A	+	66	75
	Infikován	+	+	N/A	–	1	0
	Infikován	+	NR	+	+	2	0
	Infikován	–	+	+	+	4	2
	Infikován	–	+	+	–	0	1
	Infikován	NR	+	+	+	2	0
	Infikován	NR	+	+	–	0	1
	Neinfikován	+	–	–	–	1	1
	Neinfikován	–	+	–	+	3	1
	Neinfikován	–	+	–	–	3	1
	Neinfikován	–	–	N/A	+	4	1
	Neinfikován	–	–	N/A	–	929	1023
	Neinfikován	–	NR	–	–	0	1
	Neinfikován	NR	–	–	–	35	29
MU	Infikován	+	+	N/A	+	83	55
	Infikován	+	+	N/A	–	0	1
	Infikován	+	–	+	+	1	0
	Infikován	–	+	+	+	0	1
	Infikován	–	+	+	–	1	0
	Infikován	NR	+	+	+	1	0
	Neinfikován	–	+	–	+	0	1
	Neinfikován	–	+	–	–	3	1
	Neinfikován	–	–	N/A	+	4	0
	Neinfikován	–	–	N/A	–	702	1046
	Neinfikován	–	NR	–	–	2	0
	Neinfikován	NR	–	–	–	31	31

Test ACT = Test Aptima Chlamydia trachomatis, FU = ženská moč, MU = mužská moč, N/A = nelze použít; NR = žádný výsledek.

Tabulka 10b: Stav infikovanosti *C. trachomatis* u vzorků vaginálních stěrů odebraných pacientkou

Stav infikovanosti pacienta	NAAT 1		NAAT 2		Test ACT	Příznakovost	
	PVS	FU	PVS	FU		Symptomatický	Asymptomatický
Infikován	+	+	+	+	+	60	72
Infikován	+	+	+	+	–	2	2
Infikován	+	+	+	–	+	3	1
Infikován	+	+	+	NR	+	2	0
Infikován	+	–	+	+	+	10	5
Infikován	+	–	+	+	–	1	0
Infikován	+	–	+	–	+	9	6
Infikován	+	NR	+	+	+	0	1
Infikován	+	NR	+	+	–	1	0
Infikován	+	NR	+	–	–	1	0
Infikován	–	+	+	+	+	4	1
Infikován	–	+	–	+	+	1	0
Infikován	–	+	–	+	–	1	1
Infikován	NR	+	+	+	+	0	1
Neinfikován	+	–	–	–	+	3	0
Neinfikován	+	–	–	–	–	2	6
Neinfikován	–	–	+	+	–	0	1
Neinfikován	–	–	+	–	+	0	1
Neinfikován	–	–	+	–	–	1	1
Neinfikován	–	–	–	+	–	2	0
Neinfikován	–	–	–	–	+	3	3
Neinfikován	–	–	–	–	–	904	996
Neinfikován	–	–	NR	–	–	13	10
Neinfikován	–	–	NR	NR	–	0	1
Neinfikován	–	NR	–	–	–	35	25
Neinfikován	NR	–	–	–	–	3	5
Neinfikován	NR	NR	–	–	–	41	24

Test ACT = Test Aptima Chlamydia trachomatis, FU = ženská moč; NR = žádný výsledek; PVS = vaginální výtěr odebraný pacientkou.

Distribuce RLU kontrol testu Aptima Chlamydia trachomatis

Rozložení hodnot RLU pro kontroly testu Aptima CT je uvádí Tabulka 11 na základě všech platných běhů systému Panther provedených během klinické studie.

Tabulka 11: Distribuce RLU negativních a pozitivních kontrol testu Aptima CT

Kontrola	Statistika	Celkový počet RLU (x 1000)
Pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC	N	160
	Minimum	3162
	Medián	6816,5
	Maximum	8818
	CV%	7,83

Tabulka 11: Distribuce RLU negativních a pozitivních kontrol testu Aptima CT

Kontrola	Statistika	Celkový počet RLU (x 1000)
Pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT	N	160
	Minimum	0
	Medián	2,0
	Maximum	30
	CV%	137,49

CV% = variační koeficient, RLU = relativní luminiscenční jednotka.

Poznámka: Základem pro analýzu byla hodnota RLU hlášená softwarem. Hlášená hodnota RLU je celkový naměřený počet RLU vydělený 1000 s vypuštěním číslíc za desetinnou čárkou.

Studie reprodukovatelnosti

Reprodukovatelnost testu Aptima CT byla hodnocena v systému Panther ve dvou externích amerických laboratořích a ve společnosti Hologic. Testování bylo provedeno celkem šesti uživateli pomocí dvou šarží testovacích reagentů (dva uživatelé na každém pracovišti). Testování na každém pracovišti probíhalo nejméně šest dní.

Negativní člen panelu obsahoval pouze STM. CT pozitivní členy panelu byly vytvořeny pomocí STM s CT pozitivními buňkami zředěnými v STM tak, aby bylo dosaženo příslušných cílových koncentrací (velmi nízká pozitivita, nízká pozitivita nebo pozitivita). Konečná koncentrace *Chlamydia trachomatis* se pohybovala v rozmezí od 0,25 IFU/ml do 25 IFU/ml.

Shoda s očekávanými výsledky byla u všech členů panelu 100%.

Tabulka 12 uvádí variabilitu signálu výsledků RLU testu u jednotlivých členů panelu mezi pracovišti, mezi laboranty, mezi šaržemi, mezi sériemi měření, v rámci série měření a celkově. Do analýzy byly zahrnuty pouze vzorky s platnými výsledky.

Tabulka 12: Údaje ze studie reprodukovatelnosti: Variabilita signálu podle jednotlivých členů panelu

Člen panelu	Cíl Konc. (IFU/ml)	N	Průměr RLU (x 1000)	Mezi Pracovišti		Mezi uživateli		Mezi šaržemi		Mezi běhu		V rámci běhu		Celkem	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Negativní	0	107 ¹	1,5	0,8	49,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	4,9	1,5	101,1	1,7	112,8
Velmi nízká pozitivní	0,25	108	7339,0	272,0	3,7	0,0	0,0	80,0	1,1	98,2	1,3	142,0	1,9	331,9	4,5
Slabě pozitivní	2,5	108	7387,6	307,8	4,2	0,0	0,0	97,9	1,3	139,9	1,9	114,0	1,5	370,0	5,0
Středně pozitivní	25	107 ¹	7424,4	285,6	3,8	39,6	0,5	136,9	1,8	91,3	1,2	138,7	1,9	359,8	4,8

CV = variační koeficient, RLU = relativní luminiscenční jednotka, SD = směrodatná odchylka.

Poznámky: Hodnota RLU hlášená softwarem je celkový naměřený počet RLU vydělený 1000 s vypuštěním číslíc za desetinnou čárkou. Variabilita některých koeficientů může dosahovat záporných číselných hodnot. V takových případech je hodnota SD a CV uvedena jako 0,0.

¹ Jeden neplatný výsledek byl z analýzy vyloučen.

Shoda klinického vzorku

Test Aptima CT byl nejprve zaveden na poloautomatizovaných systémech DTS a systému Tigris DTS. V roce 2010 byly indikace rozšířeny o použití testu Aptima CT na systému Panther. Systém Panther je menší přístrojová platforma představující alternativu k systému Tigris DTS. Oba systémy jsou určeny k plně automatizovanému testování amplifikovaných nukleových kyselin v diagnostických testech. Vybrané testování účinnosti testu provedené na poloautomatizovaných systémech DTS a na systému Tigris DTS bylo využito pro podporu účinnosti testu na systému Panther.

Citlivost, specifita a prediktivní hodnoty testu Aptima CT byly stanoveny za použití systému DTS. Shoda mezi výsledky testu Aptima CT vygenerovanými na plně automatizovaném systému Tigris DTS a v poloautomatizovaných systémech DTS byla vyhodnocena testováním endocervikálního stěru, mužského uretrálního stěru, mužské a ženské moči, vaginálního stěru a vzorků Pap v roztoku PreservCyt. Každý z klinických vzorků byl ve společnosti Hologic testován jednotlivě pomocí testu Aptima CT jak na systému Tigris DTS, tak na systémech DTS. Pořadí testování nebylo randomizováno. Vzorky určené k zařazení byly testovány na systému Tigris DTS, po čemž následovalo testování na systémech DTS.

Studie shody klinického vzorku – endocervikální stěr, stěr z mužské uretry, vzorky ženské a mužské moči, vaginální stěr a vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Ženské a mužské subjekty navštěvující oddělení venerologie (STD), plánování rodičovství a gynekologické/porodnické kliniky (OB/GYN) na osmi zeměpisně odlišných pracovištích s nízkou až vysokou prevalencí CT poskytly vzorky endocervikálního stěru, stěru z mužské uretry, ženské a mužské moči, vaginálního stěru a vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt. Vzorky byly předány přímo do společnosti Hologic za účelem testování, přičemž vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt byly před přenosem zpracovány ve 2 cytopatologických laboratořích. Ve společnosti Hologic byly vzorky endocervikálního stěru, stěru z mužské uretry, ženské a mužské moči nejprve vyšetřeny pomocí testu Aptima Combo 2 na systému Tigris DTS a vzorky vaginálního stěru a vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt byly vyšetřeny pomocí testu Aptima Combo 2 na systémech DTS. Vzorky s finálními neplatnými nebo nejednoznačnými výsledky nebyly do studie shody klinických vzorků Aptima CT zařazeny.

Ke srovnávacímu testování na systému Tigris DTS a systémech DTS testem Aptima CT bylo vybráno dvě stě pět ženských stěrů (87 endocervikálních a 118 vaginálních), 120 stěrů z mužské uretry, 98 vzorků ženské moči, 115 vzorků mužské moči a 116 vzorků Pap stěru v roztoku PreservCyt s pozitivními a negativními výsledky na CT v testu Aptima Combo 2. Vzorky s počátečními neplatnými nebo nejednoznačnými výsledky byly opětovně testovány na stejném systému, na němž byl získán první výsledek. U jednoho vzorku ženské moči byl původní výsledek v systémech DTS nejednoznačný; při opakovaném testování byl konečný výsledek platný. Jeden vzorek mužské moči měl v systému Tigris DTS původně neplatný výsledek; při opakovaném testování byl konečný výsledek platný. Jeden vzorek ženské moči měl v systému Tigris DTS původně nejednoznačný výsledek; tento vzorek byl znovu testován, avšak doba jeho použitelnosti vypršela, takže konečný výsledek byl nejednoznačný.

Tabulka 13 uvádí shody pozitivních, negativních a celkově pro všechny spárované výsledky každého typu vzorku podle příznakovosti. Vzorky jsou relativně nevyvážené pokud jde o symptomatický a asymptomatický stav, ale celková shoda u symptomatických subjektů byla 98,5 % (131/133) u ženských stěrů (kombinované endocervikální a vaginální stěry), 100 % (60/60) u stěrů z mužské uretry, 98,2 % (55/56) u ženských vzorků moči, 100 % (60/60) u mužských vzorků moči a 100 % (81/81) u vzorků Pap stěru v roztoku PreservCyt. U asymptomatických subjektů byla celková shoda 100 % u 72 stěrů u žen, 60 stěrů z uretry mužů, 42 vzorků moči žen, 55 vzorků moči mužů a 35 vzorků Pap stěru v roztoku PreservCyt.

Pro „všechny“ (symptomatické a asymptomatické subjekty dohromady) byla celková shoda 99,0 % (203/205) u stěrů u žen (kombinované endocervikální a vaginální stěry), 100 % (120/120) u stěrů z mužské uretry, 99,0 % (97/98) u ženské moči, 100 % (115/115) u mužské moči a 100 % (116/116) u vzorků Pap stěru v roztoku PreservCyt. Vzhledem k relativně menšímu počtu vzorků od asymptomatických subjektů nemusejí být tato zjištění zobecnitelná pro testování Aptima CT na systému Tigris se vzorky od asymptomatických subjektů.

Odhady citlivosti a specifity testu Aptima CT na základě testování na systémech DTS uvádí Tabulky 3 a 5b. Vzhledem ke zjištění shody se očekává, že citlivost a specificita testu Aptima CT při použití systému Tigris DTS budou podobné.

Tabulka 13: Studie shody klinického vzorku: Shoda pozitivních, negativních a celkově podle příznakovosti

Stav	Vzorek	Pohlaví	n	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris–	DTS– Tigris+	DTS– Tigris–	Shoda pozitivních (%) (95 % CI)	Shoda negativních (%) (95 % CI)	Celková shoda (%) (95 % CI)	
Sym.	Stěr	Ženy*	133	63	1	1	68	98,4 (91,6–100)	98,6 (92,2–100)	98,5 (94,7–99,8)	
		Muži	60	42	0	0	18	100 (91,6–100)	100 (81,5–100)	100 (94,0–100)	
	Moč	Ženy	56	33	0	1 ¹	22	100 (89,4–100)	95,7 (78,1–99,9)	98,2 (90,4–100)	
		Muži	60	41	0	0	19	100 (91,4–100)	100 (82,4–100)	100 (94,0–100)	
	PreservCyt Řešení		Ženy	81	39	0	0	42	100 (91,0–100)	100 (91,6–100)	100 (95,5–100)
Asym.	Stěr	Ženy*	72	41	0	0	31	100 (91,4–100)	100 (88,8–100)	100 (95,0–100)	
		Muži	60	23	0	0	37	100 (85,2–100)	100 (90,5–100)	100 (94,0–100)	
	Moč	Ženy	42	23	0	0	19	100 (85,2–100)	100 (82,4–100)	100 (91,6–100)	
		Muži	55	20	0	0	35	100 (83,2–100)	100 (90,0–100)	100 (93,5–100)	
	PreservCyt Řešení		Ženy	35	25	0	0	10	100 (86,3–100)	100 (69,2–100)	100 (90,0–100)
Vše	Stěr	Ženy*	205	104	1	1	99	99,0 (94,8–100)	99,0 (94,6–100)	99,0 (96,5–99,9)	
		Muži	120	65	0	0	55	100 (94,5–100)	100 (93,5–100)	100 (97,0–100)	
	Moč	Ženy	98	56	0	1 ¹	41	100 (93,6–100)	97,6 (87,4–99,9)	99,0 (94,4–100)	
		Muži	115	61	0	0	54	100 (94,1–100)	100 (93,4–100)	100 (96,8–100)	
	PreservCyt Řešení		Ženy	116	64	0	0	52	100 (94,4–100)	100 (93,2–100)	100 (96,9–100)

Sym = symptomatický, Asym = asymptomatický, CI = interval spolehlivosti.

„+“ označuje pozitivní výsledek, „–“ negativní výsledek.

*Endocervikální a vaginální stěry dohromady.

¹Vzorek měl na systému Tigris DTS konečný nejednoznačný výsledek.

Analytická účinnost

Klinická studie shody s označeným panelem

Jednotlivé negativní vzorky moči byly obohaceny CT (sérovar G), aby se vytvořil panel 120 pozitivních vzorků CT. CT pozitivní členy panelu byly obohaceny organismy při koncentraci 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml nebo 25 IFU/ml (0,5 fg/test, 5 fg/test nebo 50 fg/test). Dále bylo odebráno 120 CT negativních vzorků moči. Pozitivní a negativní panely byly testovány na třech systémech Panther a třech systémech Tigris DTS. Procentuální shoda pozitivních mezi systémem Panther a systémem Tigris DTS byla pro CT 100 %, se spodní mezí 95% intervalu spolehlivosti 98,9. Procentuální shoda negativních mezi systémem Panther a systémem Tigris DTS byla 100 %, se spodní mezí 95% intervalu spolehlivosti 98,9. Výsledky studie uvádí Tabulka 14.

Tabulka 14: Klinická studie shody s označeným panelem: Shoda s očekávanými výsledky CT

Člen panelu	Koncentrace		Replikáty	Tigris % shoda	Panther % shoda
	IFU/ml	fg/test			
Velmi nízká pozitivní	0,25	0,5	120	100	100
Slabě pozitivní	2,5	5	120	100	100
Středně pozitivní	25	50	120	100	100
Negativní	0	0	360	100	100

Celková procentuální shoda pozitivních mezi systémy Tigris a Panther (95% CI): 100 % (98,9–100).

Celková procentuální shoda negativních mezi systémy Tigris a Panther (95% CI): 100 % (98,9–100).

Studie analytické citlivosti

Analytická citlivost *C. trachomatis* (mez detekce) byla stanovena přímým porovnáním ředění organismů CT v buněčné kultuře a v testu Aptima CT. Požadavek na analytickou citlivost pro test je jedna jednotka tvořící inkluzi (Inclusion-Forming Unit, IFU) na jeden test (7,25 IFU/stěr, 5 IFU/ml moči, 9,75 IFU/ml vzorku Pap stěru v roztoku PreservCyt) pro všech 15 sérovarů CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 a L3). Ředění menší než jedna IFU/test všech sérovarů však mělo v testu pozitivní výsledek.

Analytická citlivost testu Aptima CT byla testována pomocí tří reprezentativních matic vzorků. Jednalo se o moč zpracovanou s transportním médiem pro moč (Urine Transport Medium, UTM), vzorek Pap stěru v roztoku PreservCyt zředěný transportním médiem a STM. Pooly těchto tří matic byly obohaceny rRNA CT v následujících koncentracích: 0,5 fg/test, 5 fg/test a 50 fg/test (ekvivalenty rRNA 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml nebo 25 IFU/ml). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA : RNA / buňky každého organismu. Tyto panely byly testovány ve třech systémech Panther za použití dvou šarží reagensů v 96 replikátech. Byla vypočítána pozitivní shoda s očekávaným výsledkem. Shoda s očekávanými výsledky byla 100 % (95% CI 96,2–100 %) u všech panelů moči, 100 % (95% CI 96,1–100 %) u všech panelů vzorků Pap stěru v roztoku PreservCyt a 100 % (95% CI 96,0–100 %) u všech panelů STM. Analytická citlivost testu je 2,5 IFU/ml.

Analytická specifita

Pomocí testu Aptima CT bylo hodnoceno celkem 154 izolátů kultur. Tyto izoláty zahrnovaly 86 organismů, které mohou být izolovány z urogenitálního traktu, a 68 dalších organismů, které představují fylogenetický průřez organismů. Testované organismy zahrnovaly bakterie, houby, kvasinky, parazity a viry. Všechny organismy kromě *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* a virů byly testovány při koncentraci $1,0 \times 10^6$ buněk/test v médiu pro přepravu

moči KOVA-Trol a 60 organismů bylo testováno v médiu pro přepravu stěrů. Organismy Chlamydia a Neisseria byly testovány v médiu s roztokem PreservCyt. *C. psittaci* (VR601) byl testován při koncentraci $8,0 \times 10^4$ buněk/test a *C. psittaci* (VR125) byl testován při koncentraci $1,0 \times 10^5$ buněk/test. *C. pneumoniae* byl testován při koncentraci 4×10^3 buněk/test a *U. urealyticum* byl testován při koncentraci $6,7 \times 10^6$ buněk/test. Viry byly testovány následovně: (a) herpes simplex virus I: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) herpes simplex virus II: $6,0 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (c) lidský papillomavirus 16: $2,9 \times 10^6$ DNA kopií/test a (d) cytomegalovirus: $4,8 \times 10^5$ buněk/test. Seznam testovaných organismů uvádí Tabulka 15.

Tabulka 15: Analytická specifita

Organismus	Organismus	Organismus
<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 lwoffii</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>	Herpes simplex virus I	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Herpes simplex virus II	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Lidský papillomavirus 16	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Kingella dentrificans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteriodes ureolyticus</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Bifidobacterium brevi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus jensonii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella pneumophila</i> (2)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida parapsilóza</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> séroskupiny A	<i>Streptococcus mutans</i>
Cytomegalovirus	<i>N. meningitidis</i> séroskupiny B	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>N. meningitidis</i> séroskupiny C (4)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Derris gummosa</i>	<i>N. meningitidis</i> séroskupiny D	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>N. meningitidis</i> séroskupiny Y	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>N. meningitidis</i> séroskupiny 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) = počet testovaných kmenů. Všechny testované organismy vykázaly v testu Aptima CT negativní výsledek.

Studie ekvivalence analytické specifity

U amplifikačního testu nukleových kyselin je analytická specifita vzhledem k jednotlivým organismům spíše určována chemií testu (např. oligonukleotidovými sekvencemi) než platformou. Jelikož reagentie pro test Aptima CT jsou mezi systémem Panther, Tigris DTS a systémy DTS totožné, experimenty zkoumající analytickou specifitu systému Panther byly navrženy tak, aby se zaměřily na nejnáročnější izoláty kultury. Tyto organismy zahrnovaly ty, o kterých je známo, že zkříženě reagují v jiných amplifikačních testech. Dvacet pět (25) kultivačních izolátů bylo vybráno z panelu organismů, které uvádí Tabulka 15. Všechny testované organismy vykázaly negativní výsledky.

Interferující látky

Následující interferující látky byly jednotlivě přidány standardním přídávkem (spikováním) do vzorků stěru a vzorků Pap stěru v roztoku PreservCyt a/nebo vzorků moči: 10% krev, antikoncepční gel, spermicid, zvlhčovací krém, hemoroidní anestetikum, tělový olej, pudr, antifungální krém, vaginální lubrikanty, ženský sprej a leukocyty (1×10^6 buněk/ml). Následující interferující látky byly jednotlivě přidány standardním přídávkem (spikováním) do vzorků moči: 30% krev, analyty moči, bílkoviny, glukóza, ketony, bilirubin, dusičnan, urobilinogen, pH 4 (kyselé), pH 9 (alkalické), leukocyty (1×10^6 buněk/ml), buněčné fragmenty, vitaminy, minerály, acetaminofen, aspirin a ibuprofen. Všechny byly testovány na potenciální interferenci s testem v nepřítomnosti a přítomnosti CT v odhadnutém ekvivalentu rRNA 1 buňka/test (5 fg/test). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA : RNA / buňky každého organismu. U žádné testované látky nebyla pozorována žádná interference. V testu Aptima CT nebyly pozorovány žádné inhibitory amplifikace.

Studie ekvivalence interferujících látek

Krev, která se běžně vyskytuje u urogenitálních vzorků, může interferovat s některými amplifikačními testy. Plná krev byla použita k určení stupně interference krve na systému Panther s ohledem na tento potenciální interferent. Do klinických poolů vzorků vaginálních stěrů, následně zpracovaných vzorků Pap stěru v roztoku PreservCyt nebo vzorků moči byla přidána čerstvá krev a poté byly testovány z hlediska potenciální interference testu za přítomnosti a nepřítomnosti cíle CT. Jako cílová koncentrace se použil odhadovaný ekvivalent rRNA jedna (1) CT IFU/test (5 fg/test), jelikož tato hladina představuje analytickou citlivost testu. Vzorky byly testovány v systému Panther. Všechny vzorky obsahující cílovou nukleovou kyselinu byly pozitivní při testování na úrovni 10 % (obj./obj.) krve ve vzorku ze stěrů nebo ve vzorcích Pap stěru v roztoku PreservCyt nebo 30 % (obj./obj.) krve v moči. Všechny vzorky, které neobsahovaly cíl, byly správně identifikovány jako negativní. Tyto výsledky jsou shodné s výsledky, které byly demonstrovány u systému Tigris DTS při přidání stejného množství krve. Krev přidaná do vzorků stěrů, roztoku PreservCyt a vzorků moči v mnohem vyšších koncentracích, než se očekávalo při normálním odběru vzorků, výsledky systému Panther neovlivnila.

Výtěžnost

Ke vzorkům obsahujícím rRNA ekvivalentní přibližně jedna CT IFU (5 fg) byly přidány *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus* a *Staphylococcus epidermidis* (1×10^8 buněk/test). Tyto přídatky při použití testu Aptima CT neinterferovaly s amplifikací ani detekcí CT rRNA.

Studie přesnosti/reprodukovatelnosti

Přesnost testu Aptima CT byla hodnocena ve třech systémech Panther a ve dvou šaržích souprav testu Aptima CT během 24 dnů. Panely byly připraveny obohacením STM o rRNA CT v koncentracích, které uvádí Tabulka 16. Operátoři provedli dva běhy denně pro každý člen panelu ve dvou replikátech na jeden běh. Byla vypočítána shoda s očekávaným výsledkem a přesnost byla odhadnuta podle pokynů NCCLS EP5-A2 (17). Celkový počet replikátů pro každý panel byl 93–96. Tabulka 16 uvádí data týkající se přesnosti RLU ve smyslu průměru, směrodatné odchylky, variačního koeficientu (CV), procentuální shody s očekávanými výsledky a výpočty variability mezi jednotlivými přístroji, mezi šaržemi, mezi běhy a v rámci běhů.

Tabulka 16: Přesnost systému Panther pro test Aptima CT

Matrice	CT (IFU/ml)	N*	Průměrná hodnota RLU (x 1000)	% shoda	Mezi přístroji		Mezi šaržemi		Mezi běhy		V rámci běhu		Celkem	
					SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)
STM	0	96	2	100	0,38	21,3	0,64	35,8	0	0	1,86	104,6	2	112,3
	0,25	93	7390	100	221,74	3	264,35	3,6	0	0	180,07	2,4	389,2	5,3
	2,5	96	7478	100	224,45	3	249,88	3,3	53,1	0,7	164,57	2,2	377,8	5,1
	25	96	7482	100	222,23	3	233,36	3,1	46,47	0,6	180,29	2,4	372,2	5
Moč	0	95	2	100	0,23	12,7	0,38	20,7	0,52	28,5	1,3	71	1,5	81,9
	0,25	96	6978	100	276,94	4	330,57	4,7	66,36	1	264,73	3,8	510,4	7,3
	2,5	95	7291	100	121,2	1,7	154,63	2,1	73,51	1	148,13	2	256,8	3,5
	25	95	7349	100	121,57	1,7	181,34	2,5	66,87	0,9	162,45	2,2	280,2	3,8
Roztok PreservCyt	0	96	7	97,9	3,36	46,1	0,29	4	0	0	20,52	281,4	20,8	285,3
	0,25	96	6996	100	225,16	3,2	209,86	3	0	0	164,87	2,4	349,2	5
	2,5	95	7079	100	246,89	3,5	172,55	2,4	0	0	151,67	2,1	337,2	4,8
	25	96	7050	100	262,52	3,7	167,79	2,4	0	0	192,5	2,7	366,2	5,2

RLU = relativní světelná jednotka; % Agrmt = procentuální shoda; CV% = procentuální variační koeficient; SD = směrodatná odchylka. Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně negativní, což může nastat, pokud je variabilita způsobená těmito faktory velmi malá. Pokud k tomu dojde, SD = 0 a CV = 0 %.

* Celkový počet replikátů pro každý panel = 96. Ve vybraných sériích nebyly opakovaně testovány jednotlivé neplatné replikáty.

Studie přenosu

Aby se zjistilo, že systém Panther minimalizuje riziko falešně pozitivních výsledků vyplývajících z přenosu kontaminace, byla provedena vícenásobná analytická studie s využitím označených panelů ve třech systémech Panther. Přenos byl vyhodnocen s použitím přibližně 20 % vysokých titrů CT vzorků rozptýlených mezi negativními vzorky. Běhy zahrnovaly skupiny vysoce pozitivních vzorků se skupinami negativních vzorků, stejně jako jednotlivé vysoce pozitivní vzorky rozptýlené určitým způsobem v rámci běhu. Vzorky s vysokým titrem byly připraveny obohacením STM o rRNA CT na konečnou koncentraci 5×10^5 fg rRNA / reakce (ekvivalent rRNA $2,5 \times 10^5$ IFU/ml). Testování bylo provedeno za použití 5 běhů v každém ze tří systémů Panther s celkem 2933 negativními vzorky. Celkový výskyt přenosu byl 0 % s 95% intervalem spolehlivosti 0–0,1 %. Celkem 7 negativních vzorků bylo při testování přenosu vysokého titru nahlášeno jako neplatné a byly z výpočtu vyloučeny.

Studie stability vzorku

A. Stěry

Data k podpoře doporučených podmínek přepravy a skladování vzorků endocervikálních, uretrálních a vaginálních stěrů byla vytvořena směsnými vzorky negativních stěrů. Poolované vzorky byly obohaceny CT s finální koncentrací 1 IFU v jedné reakci. Obohacené vzorky byly uchovány při teplotě 4 °C a 30 °C. Vzorky byly testovány v duplikátech ve dnech 0, 20, 77 a 117. Všechny podmínky testu byly pro CT po celou dobu a pro všechny teploty pozitivní.

B. Vzorky moči

Data k podpoře doporučených podmínek přepravy a skladování vzorků moči byla generována pomocí ženských a mužských negativních vzorků moči. Vzorky moči byly obohaceny pomocí CT v konečné koncentraci 10 IFU na reakci. Dvě sady obohacených vzorků moči byly uchovávány při teplotě 30 °C před přidáním do média pro přepravu moči (Urine Transport Media, UTM). Dvě sady vzorků UTM byly poté uchovávány při teplotě 4 °C a 30 °C a testovány třikrát ve dnech 0, 1, 5, 20 a 35. Všechny vzorky UTM byly ve všech časových bodech pozitivní na CT.

C. Vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt

Data k podpoře doporučených podmínek přepravy a skladování vzorků Pap stěru v roztoku PreservCyt byla vytvořena s negativními zpracovanými a nezpracovanými vzorky Pap stěru. U nezpracovaných vzorků byly testovány čtyři pooly vzorků v roztoku PreservCyt poté, co byly skladovány v lahvičce s roztokem PreservCyt. Každý pool vzorků byl obohacen o 1 až 10 IFU CT/test, uchovávan při teplotě 2 °C, 10 °C a 30 °C a poté testován ve výchozím stavu a ve dnech 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 a 36. Všechny obohacené vzorky byly pozitivní na CT v každém časovém bodě a při všech teplotách.

U zpracovaných vzorků se použily čtyři pooly vzorků v roztoku PreservCyt ke stanovení stability zpracovaných vzorků při teplotě 2 °C až 30 °C. Každý pool negativních vzorků byl obohacen o 1 až 10 IFU CT/test a poté testován ve výchozím stavu. Před zpracováním byly vzorky v roztoku PreservCyt skladovány při teplotě 30 °C po dobu sedmi (7) dní k simulaci časového prostojie mezi odběry vzorku, zpracováním Pap a odesláním do mikrobiologické laboratoře k testování. Po sedmi dnech při teplotě 30 °C byly 1ml alikvoty z každého poolu přeneseny do transferové zkumavky na vzorky Aptima a testovány ve výchozím stavu a poté uloženy při teplotě 2 °C, 10 °C a 30 °C. Zpracované vzorky byly poté testovány po dobu 17 dní, kdy byly skladovány při teplotě 30 °C, a po dobu 36 dní, kdy byly skladovány při teplotě 2 °C až 10 °C. Všechny obohacené vzorky byly pozitivní na CT v každém časovém bodě a při všech teplotách.

D. Studie stability dodatečně zmrazených vzorků (při teplotě -20°C)

Doporučené podmínky při skladování ve zamrazeném stavu pro vzorky endocervikálního stěru, uretrálního stěru, vaginálního stěru, ženské moči a mužské moči a vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt v transportním médiu jsou mezi -20 °C a -70 °C, díky čemuž je bude možné testovat až do 12 měsíců po odběru. Podpurná data pro každý typ vzorku byla vytvořena na základě 90 negativních vzorků. Z toho 30 vzorků bylo obohaceno pomocí CT v dávce 1,0 IFU na reakci, 30 vzorků bylo obohaceno v dávce 0,1 IFU na reakci a 30 vzorků nebylo obohaceno. Vzorky v transportních médiích byly uchovávány ve zmrazeném stavu do 7 dnů od odběru a testovány ve dnech 200 a 400. Vzorky splnily kritéria přijatelnosti s 95% shodou s očekávanými výsledky.

Literatura

1. **Beem, M. O., and E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. *NEJM* **296**:306-310.
2. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, and H. H. Lee.** 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. *J. Clin. Microbiol.* **34**:2395-2400.
3. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **164**:1771-1781.
4. **Střediska pro kontrolu a prevenci nemocí.** Surveillance sexuálně přenosných nemocí 2020. Naposledy zkontrolováno úterý 12. dubna 2022. Přístup čtvrtek středa 7. prosince 2022. <https://www.cdc.gov/std/statistics/2020/overview.htm>.
5. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano, and J. B. Mahony.** 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. *Mol. Cell. Probes.* **11**:243-249.
6. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrich, 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 Test APTIMA Combo 2 when testing for inhibitors. *J. Clin. Microbiol.* **41**:778-782.
7. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos, and T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Hologic AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. *J. Clin. Microbiol.* **36**:391-394.
8. **Frommelt, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. *Journal of Pediatrics* **95**:28-32.
9. **Gaydos, C. A., T.C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the Test APTIMA Combo 2 for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. *J. Clin. Microbiol.* **41**:304-309.
10. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, and R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. *J. Clin. Microbiol.* **35**:2628-2633.
11. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander.** 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. *NEJM* **292**:1199-1205.
12. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh, and T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. *J. Clin. Microbiol.* **31**:1209-1212.
13. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors, and M. Chernesky.** 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. *J. Clin. Microbiol.* **36**:3122-3126.
14. **McCurdy, Brenda W.** 1997. Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory. Únor, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
15. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
16. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
17. **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).
18. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test. *J. Clin. Microbiol.* **35**:957-959.
19. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
20. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
21. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
22. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **123**:753-757.
23. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee.** 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. *J. Clin. Microbiol.* **36**:2666-2670.
24. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. *J. Clin. Microbiol.* **36**:2356-2358.
25. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. *J. Clin. Microbiol.* **34**:3072-3074.

26. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstrauss.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. *J. Clin. Microbiol.* **3**:74-80.
27. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. *Infect. Immun.* **57**:1040-1049.

Kontaktní informace a historie revizí



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

E-mailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb ve vaší zemi najdete na adrese www.hologic.com/support.

Závažné události, ke kterým v souvislosti s prostředkem dojde v Evropské unii, se musí hlásit výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel nebo pacient usazen.

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, PreservCyt, Panther, Panther Fusion, ThinPrep, Tigris, and TMA jsou ochranné známky a/ nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc. a/nebo jejích dceřiných společností na území USA a/nebo jiných zemí.

KOVA-TROL je ochranná známka společnosti Hycor Biomedical, Inc.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na adrese www.hologic.com/patents.

© 2024 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-29039-2601 Rev. 005

2024-09

Historie revizí	Datum	Popis
AW-29039 Rev. 005	Duben 2024	- Vytvoření návodu k použití testu Aptima CT AW-29039 Rev. 005 (Ex-US) na základě návodu k použití testu Aptima CT AW-29039 Rev. 004. Dokument 502184EN Rev. 010 bude nahrazen verzí Rev. 005, nikoli verzí Rev. 003 nebo Rev. 004. - Opravena menší administrativní chyba v tabulce 6g.
AW-29039 Rev. 006	Září 2024	- Vytvoření návodu k použití testu Aptima CT AW-29039 Rev. 006 (Ex-US) v souladu s nařízením (EU) o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro na základě návodu k použití testu Aptima CT Assay v souladu s nařízením (EU) o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro. AW-29039 Rev. 005. Dokument 502184EN Rev. 010 bude nahrazen verzí Rev. 006, nikoli verzí Rev. 005, Rev. 004 nebo Rev. 003. - Oprava části o bezpečnostních listech. - Oprava administrativní chyby v tabulce 3.