

Test Aptima® Chlamydia trachomatis Assay

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

Informazioni generali	2
Usato previsto	2
Sintesi e spiegazione dell'analisi	2
Principi della procedura	3
Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione	3
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	8
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	9
Panther System	11
Reagenti e materiali forniti	11
Materiali richiesti ma disponibili separatamente	12
Materiali opzionali	13
Procedura di analisi del Panther System	13
Note procedurali	16
Interpretazione del test – CQ/Risultati relativi ai pazienti	18
Limiti	21
Risultati degli studi clinici	23
Valori attesi	24
Prevalenza	24
Valori predittivi positivi e negativi per i tassi di prevalenza ipotetici nel Nord America	25
Distribuzione delle RLU del DTS System per il test Aptima CT Assay	26
Prestazioni cliniche del DTS System	28
Studio sui campioni clinici — Campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile, di tampone vaginale e di urina	28
Prestazioni cliniche del DTS System	28
Distribuzione delle RLU per i controlli Aptima	38
Prestazioni cliniche del Panther System	40
Studio clinico	40
Risultati delle prestazioni	40
Tabelle dello stato di infezione da Chlamydia trachomatis	43
Distribuzione delle RLU per i controlli del test Aptima Chlamydia trachomatis Assay	45
Studio sulla riproducibilità	45
Concordanza dei campioni clinici	46
Prestazioni analitiche	49
Studio sulla concordanza del pannello clinico arricchito	49
Studio sulla sensibilità analitica	49
Specificità analitica	49
Studio sull'equivalenza della specificità analitica	51
Sostanze interferenti	51
Studio sull'equivalenza delle sostanze interferenti	51
Recupero	51
Studio sulla precisione/riproducibilità	52
Studio sulla contaminazione crociata	52
Studi sulla stabilità dei campioni	53
Bibliografia	54
Recapiti e Cronologia delle revisioni	56

Informazioni generali

Uso previsto

Il test Aptima® Chlamydia trachomatis Assay è un test con sonda dell'acido nucleico con amplificazione del target che utilizza la cattura del target e la tecnologia di amplificazione mediata da trascrizione (TMA™) per il rilevamento qualitativo *in vitro* dell'RNA ribosomiale (rRNA) da *Chlamydia trachomatis* (CT), allo scopo di facilitare la diagnosi della malattia urogenitale da clamidia utilizzando il Panther® System. Il test può essere usato per testare i seguenti campioni derivanti da individui sintomatici e asintomatici: campioni di tamponi endocervicali, vaginali e dell'uretra maschile raccolti dal medico; campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente¹, e campioni di urina femminile e maschile. Questo test è destinato anche all'uso con l'analisi di campioni ginecologici, provenienti da pazienti sintomatici e asintomatici, raccolti nella soluzione PreservCyt®.

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

Sintesi e spiegazione dell'analisi

Le infezioni da *Chlamydia trachomatis* (CT) sono una delle malattie a trasmissione sessuale più diffuse al mondo. Solo negli Stati Uniti, si stima che 1.579.885 (481,3 casi per 100.000 abitanti) nuovi casi di infezioni da CT siano stati segnalati ai Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie (CDC) nel 2020 (4).

I batteri della clamidia sono non mobili, Gram-negativi e intracellulari obbligati. La specie CT è composta da quindici sierotipi (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3) che possono causare malattie negli esseri umani (27). I sierotipi da D a K sono la causa principale delle infezioni genitali clamidiali negli uomini e nelle donne (19). La *C. trachomatis* può causare uretrite non gonococcica, epididimite, proctite, cervicite, salpingite acuta e malattia infiammatoria pelvica (3, 11, 21, 22). Le infezioni da *C. trachomatis* sono spesso asintomatiche sia nell'uomo sia nella donna. I bambini nati da madri infette sono significativamente a più elevato rischio di congiuntivite da inclusi e polmonite da clamidia (1, 8, 20).

Storicamente, nei laboratori clinici sono stati utilizzati diversi metodi per il rilevamento della CT, tra cui la coltura cellulare, il test diretto degli anticorpi in fluorescenza, il dosaggio immunoenzimatico e i test diretti del DNA con sonda. Metodologie più recenti per il rilevamento della CT includono i test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT). La coltura cellulare era un tempo considerata il "gold standard" per il rilevamento della CT. La coltura è piuttosto specifica, ma le pubblicazioni scientifiche hanno dimostrato che i test NAAT hanno una sensibilità clinica più elevata rispetto alla coltura (2, 7, 12, 23). A causa della sensibilità clinica inferiore e delle prestazioni variabili fra i vari laboratori, la coltura è stata sostituita in molti laboratori dai test NAAT.

I test NAAT di prima generazione per CT presentano problemi tecnologici che hanno limitato le loro prestazioni. Tali problemi includono il trattamento complesso dei campioni e l'inibizione dei campioni che possono fornire risultati falsi negativi (5, 10, 13, 18, 24, 25, 26). Il test Aptima Chlamydia trachomatis (test Aptima CT Assay) è un test NAAT di seconda generazione che utilizza le tecnologie di cattura del target, TMA e analisi con protezione dell'ibridizzazione (HPA) per semplificare rispettivamente il trattamento dei campioni, amplificare l'rRNA target e rilevare l'amplicone.

Recenti studi che confrontano le prestazioni e l'inibizione dei campioni di vari sistemi di amplificazione hanno dimostrato i vantaggi delle tecnologie di cattura del target, TMA e HPA (6, 9).

Principi della procedura

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

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

Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione

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

Avvertenze e precauzioni

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

Informazioni pertinenti al laboratorio

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

Informazioni pertinenti ai campioni

- L. Questo test è stato provato usando soltanto campioni di tamponi endocervicali e uretrali maschili, campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt, campioni di tampone vaginale e campioni di urina femminile e maschile. Le prestazioni con campioni diversi da quelli specificati nella sezione *Raccolta e conservazione dei campioni biologici* non sono state valutate.
I singoli laboratori possono convalidare altri dispositivi di raccolta (14, 16).
- M. Le date di scadenza indicate nei kit per la raccolta si riferiscono al centro di raccolta e non alla struttura di analisi. I campioni raccolti in qualsiasi momento prima della data di scadenza del kit di raccolta, e che siano trasportati e conservati secondo le istruzioni del foglietto illustrativo, sono validi per l'analisi anche se la data di scadenza sulla provetta di raccolta è passata.

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

Informazioni pertinenti al test

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

AA. Alcuni reagenti del kit riportano, sulle rispettive etichette, delle indicazioni di pericolo.

Nota: le informazioni relative alle comunicazioni in merito alle indicazioni di pericolo utilizzano le classificazioni delle schede di sicurezza UE (SDS). Per informazioni relative alle comunicazioni correlate alle indicazioni di pericolo, specifiche per la propria regione, fare riferimento alla scheda SDS specifica della regione nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologic.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli alla pagina <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informazioni sui rischi UE
<p>Amplification Reagent <i>HEPES 25-30%</i></p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
<p>Enzyme Reagent <i>HEPES 1-5%</i> <i>TRITON X-100 1 - 5%</i></p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
<p>Probe Reagent <i>LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35 - 40%</i> <i>SUCCINIC ACID 10 - 15%</i></p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
<p>Enzyme Reconstitution Solution <i>GLICEROLO 20 - 25%</i> <i>TRITON X-100 5 - 10%</i> <i>HEPES 1-5%</i></p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>

**Selection Reagent**

ACIDO BORICO 0 - 10%
TRITON X-100 0-10%
IDROSSIDO DI SODIO 0-10%

**Pericolo**

H315 - Provoca irritazione cutanea.
H360FD - Può nuocere alla fertilità. Può nuocere al feto.
P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso.
P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
P302 + P352 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.
P321 - Trattamento specifico (vedere le istruzioni supplementari per il primo soccorso su questa etichetta).
P332 + P313 - In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.
P362 + P364 - Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
P201 - Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P202 - Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.
P308 + P313 - IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.
P405 - Conservare sotto chiave.
P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.

Target Capture Reagent

HEPES 5 - 10%
EDTA 1 - 5%
LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 - 5%

H401 - Tossico per gli organismi acquatici
H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
P273 - Non disperdere nell'ambiente.
P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

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

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

- B. Se il reagente di selezione viene conservato refrigerato, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente prima di collocarlo sul Panther System.
- C. Il reagente di cattura del target di lavoro (wTCR) è stabile per 60 giorni se conservato a temperature comprese tra 15 °C e 30 °C. Non refrigerare.
- D. Dopo la ricostituzione, il reagente enzimatico, il reagente di amplificazione e il reagente sonda sono stabili per 60 giorni quando vengono conservati a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C.
- E. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e il reagente Target Capture di lavoro (wTCR) dopo 60 giorni o dopo la data di scadenza del Lotto di riferimento, a seconda di quale data cada per prima.
- F. Evitare la contaminazione crociata durante la manipolazione e la conservazione del reagente. Prima della conservazione, tappare sempre tutti i reagenti ricostituiti con nuovi tappi del reagente.
- G. I controlli sono stabili fino alla data indicata sulle fiale.
- H. Per i reagenti conservati sul Panther System la stabilità a bordo è di 72 ore.
- I. Il reagente sonda e il reagente sonda ricostituito sono fotosensibili. Conservare i reagenti al riparo dalla luce.
- J. Una volta riscaldate fino a temperatura ambiente, alcune provette di controllo potrebbero apparire torbide o contenere precipitati. Torbidità o precipitazione associate ai controlli non hanno impatto sulle prestazioni dei controlli stessi. I controlli possono essere usati sia quando sono trasparenti sia quando sono torbidi o contengono precipitato. Se si desiderano controlli trasparenti, è possibile accelerare la solubilizzazione incubando i controlli alla fascia superiore dell'intervallo di temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C).
- K. Non congelare i reagenti.

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

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

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

A. Istruzioni per la raccolta

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

B. Trasporto e conservazione dei campioni prima dell'analisi

1. Campioni di tampone

- a. Dopo la raccolta, trasportare e conservare il tampone fino al momento dell'analisi, nella provetta di trasporto dei campioni di tampone a temperature comprese tra 2 °C e 30 °C. I campioni devono essere analizzati con il test Aptima CT Assay entro 60 giorni dalla raccolta. Qualora fosse necessaria una conservazione più prolungata, congelare i campioni di tampone nella provetta di trasporto dei campioni di tampone entro 7 giorni dalla raccolta, a una temperatura compresa tra -20 °C e -70 °C, per consentire l'analisi fino a 12 mesi dopo la raccolta (consultare la sezione *Studi sulla stabilità dei campioni*).

2. Campioni di urina

- a. Mantenere i campioni di urina a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C dopo la raccolta, e trasferirli nella provetta di trasporto del campione di urina Aptima entro 24 ore dalla raccolta. Trasferire al laboratorio all'interno del contenitore di raccolta primario o nella provetta di trasporto, a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C. Conservare a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C e analizzare i campioni di urina trattati con il test Aptima CT entro 30 giorni dalla raccolta.
- b. Qualora fosse necessaria una conservazione più prolungata, congelare i campioni di urina nella provetta di trasporto del campione di urina Aptima entro 7 giorni dalla raccolta, a una temperatura compresa tra -20 °C e -70 °C, per consentire l'analisi fino a 12 mesi dopo la raccolta (consultare la sezione *Studi sulla stabilità dei campioni*).

3. Campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt

- a. I campioni per Pap test raccolti nella soluzione PreservCyt destinati ai test TC devono essere trattati per la citologia e/o trasferiti in una provetta di trasporto dei campioni Aptima entro 30 giorni dalla raccolta se conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C (consultare la sezione *Studi sulla stabilità dei campioni*).
- b. Se verrà impiegata la procedura ThinPrep di rimozione dell'aliquota, fare riferimento al *ThinPrep Processor Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del processore ThinPrep) per le relative istruzioni. Trasferire 1 ml dell'aliquota rimossa in una provetta di trasporto del campione Aptima attenendosi alle istruzioni del foglietto illustrativo del kit di trasporto dei campioni e della soluzione di trasporto Aptima.

- c. Se si analizza il campione dopo averlo trattato utilizzando il processore ThinPrep, trattare il campione per Pap test raccolto nella soluzione PreservCyt in conformità con il *Manuale per l'operatore del processore ThinPrep* e il foglietto illustrativo del kit di trasporto dei campioni e della soluzione di trasporto Aptima. Trasferire 1,0 ml del fluido rimanente nella fiala della soluzione PreservCyt in una provetta di trasporto del campione Aptima secondo le istruzioni contenute nel foglietto illustrativo del kit di trasporto dei campioni e della soluzione di trasporto dei campioni Aptima.
 - d. Una volta trasferito il campione per Pap test raccolto in soluzione PreservCyt nella provetta di trasporto del campione Aptima, il campione deve essere analizzato con il test Aptima CT entro 30 giorni, se conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C, oppure entro 14 giorni, se conservato a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C. Se occorre conservare il campione più a lungo, congelarlo entro 7 giorni dal trasferimento nella provetta di trasporto del campione Aptima, a una temperatura compresa tra -20 °C e -70 °C, per consentire l'analisi fino a 12 mesi dopo il trasporto (consultare la sezione *Studi sulla stabilità dei campioni*).
- C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi
1. I campioni analizzati devono essere conservati su una rastrelliera, in posizione verticale.
 2. Le provette di trasporto dei campioni vanno coperte con una nuova barriera pulita di pellicola di plastica o di alluminio.
 3. Se i campioni dosati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi penetrabili e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili sulle provette di trasporto del campione. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate. Prima di rimuovere i tappi dai campioni precedentemente analizzati e chiusi nuovamente con tappi, occorre sottoporre a centrifuga le provette di trasporto del campione per 5 minuti ad una forza centrifuga relativa (RCF) di 420 per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta.
Evitare schizzi e contaminazione crociata.

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

Panther System

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

Reagenti e materiali forniti

Kit per test Aptima Chlamydia trachomatis Assay, 100 test (2 confezioni e 1 kit dei controlli)
(num. n. 302925)

Scatola refrigerata del test Aptima Chlamydia trachomatis Assay (scatola 1 di 2)
(alla consegna, conservare a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C)

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

Scatola a temperatura ambiente del test Aptima Chlamydia trachomatis Assay (scatola 2 di 2)
(alla consegna, conservare a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C)

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

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

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

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

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

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

	<u>N. cat.</u>
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Panther System, liquido e scarico continui (Panther Plus)	PRD-06067
Kit di liquidi per test Aptima Assay <i>(Soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente dell'olio Aptima)</i>	303014 (1000 test)
Aptima Auto Detect Kit	303013 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore di rifiuti Panther	504405
o Kit sessione analitica Panther <i>contiene unità multiprovetta (MTU), sacchetti di scarico, coperchi del contenitore di scarico, liquidi del test e reagenti Auto Detect</i>	303096 (5.000 test)
Puntali, 1.000 µL, con filtro, conduttivi, rilevanti liquido e monouso	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni geografiche. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche sull'area geografica.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Kit di trasporto dei campioni Aptima <i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>	301154C
Kit di trasporto dei campioni Aptima - stampabile <i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>	PRD-05110
Kit di raccolta dei campioni di tampone Aptima Multitest	PRD-03546
Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tampone uretrali maschili ed endocervicali	301041
Kit di raccolta dei campioni di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili	301040

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

Materiali opzionali

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

Procedura di analisi del Panther System

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

A. Preparazione dell'area di lavoro

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

B. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

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

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
 - a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di collegare il collare di ricostituzione, assicurarsi che le etichette della soluzione di ricostituzione e del reagente siano dello stesso colore.
 - b. Controllare i numeri di lotto sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
 - c. Aprire la fiala del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala (Figura 1, Procedimento 1).
 - d. Aprire la bottiglia di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.

- e. Tenendo il flacone della soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 1, Passaggio 2).
- f. Capovolgere lentamente la bottiglia con il flacone collegato. Lasciare scendere la soluzione dal flacone nella fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 3).
- g. Agitare roteando con attenzione la soluzione nel flacone per miscelarla. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 1, Passaggio 4).
- h. Attendere che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere nuovamente i due flaconi assemblati, inclinandoli con un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, Procedimento 5). Lasciare che tutto il liquido ritorni nella bottiglia di plastica.
- i. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 6).
- j. Rimettere il tappo sulla bottiglia di plastica. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, Procedimento 7).
- k. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 8).

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

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

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

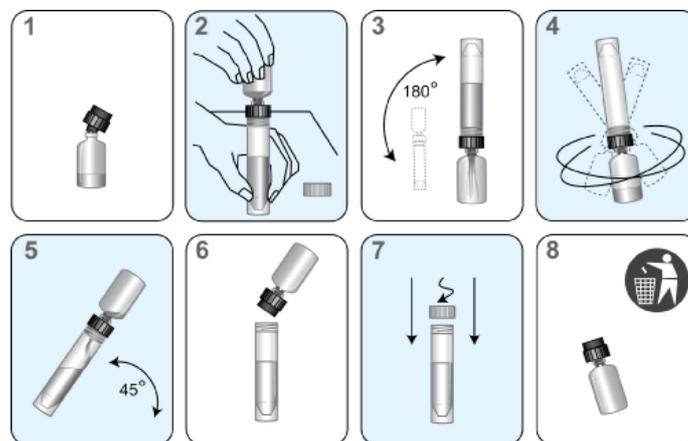


Figura 1. Processo di ricostituzione dei reagenti

2. Preparare il reagente di cattura del target di lavoro (wTCR).
 - a. Accoppiare i giusti flaconi di TCR e TCR-B.
 - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
 - c. Aprire il flacone di TCR e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Aprire il flacone di TCR-B e versarne l'intero contenuto nel flacone di TCR. È normale che nel flacone di TCR-B resti una piccola quantità di liquido.

- e. Chiudere con il tappo il flacone di TCR e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo passaggio.
 - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
 - g. Smaltire il flacone e il tappo del TCR-B.
3. Preparazione del reagente Selection
- a. Controllare il numero di lotto sul flacone di reagente per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sul foglio dei codici a barre dei lotti master.
 - b. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

Nota: *miscelare accuratamente tutti i reagenti capovolgendoli con attenzione prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.*

C. Preparazione di reagenti precedentemente ricostituiti

1. I reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C) prima di iniziare il test.
Opzione: i flaconi di plastica con tappo dei reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda ricostituiti possono essere posizionati su un agitatore oscillante per provette impostato a velocità moderata e inclinato per un minimo di 25 minuti per garantire che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente e siano accuratamente miscelati.
2. Se il reagente sonda ricostituito contiene precipitato che non rientra in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare il flacone tappato a una temperatura che non superi i 62 °C per 1 o 2 minuti. Dopo questo procedimento di riscaldamento, il reagente sonda può essere usato anche se resta del precipitato residuo. Prima di caricarlo sul sistema, miscelare il reagente sonda capovolgendolo, facendo attenzione a non produrre schiuma.
3. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.
4. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi rabboccati.

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

D. Manipolazione dei campioni biologici

1. Prima del trattamento, lasciare che i controlli e i campioni raggiungano la temperatura ambiente.
2. Non miscelare i campioni con vortex.
3. Controllare visivamente che tutte le provette dei campioni soddisfino almeno uno dei seguenti criteri:
 - a. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima rosa in una provetta di trasporto dei campioni di tampone.
 - b. Un volume finale di urina compreso tra le linee nere di riempimento di una provetta di trasporto dei campioni di urina.
 - c. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima blu in una provetta di trasporto dei campioni di tampone unisex.
 - d. L'assenza di un tampone nella provetta di trasporto del campione Aptima per campioni per Pap test raccolti nella soluzione PreservCyt.
4. Ispezionare le provette dei campioni prima di caricarle sulla rastrelliera.
 - a. Se una provetta del campione contiene bolle nello spazio tra il liquido e il tappo, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per eliminare le bolle.

- b. Se una provetta del campione presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato quando sono state seguite le istruzioni per la raccolta, centrifugare la provetta per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non sia presente liquido nel tappo.
- c. Se il livello del liquido in una provetta del campione di urina non rientra tra le due righe indicatrici nere dell'etichetta, il campione deve essere rifiutato. Non forare una provetta troppo piena.
- d. Se una provetta del campione di urina contiene precipitato, riscaldare il campione a 37 °C per un massimo di 5 minuti. Nel caso in cui il precipitato non rientri in soluzione, accertarsi visivamente che il precipitato non impedisca l'erogazione del campione.

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

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

E. Preparazione del sistema

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

Note procedurali

A. Controlli

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

B. Temperatura

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

C. Talco dei guanti

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

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

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

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

1. Etichettare le provette di trasporto dei tamponi con i numeri corrispondenti alle aree da analizzare.
2. Rimuovere il tampone di raccolta del campione biologico (tampone su bastoncino blu con stampa verde) dalla confezione, bagnare il tampone nel terreno di trasporto del campione (STM) e passare il tampone sull'area designata con un movimento circolare.
3. Inserire immediatamente il tampone nella provetta di trasporto.
4. Spezzare con cautela il bastoncino del tampone in corrispondenza della linea indicatrice, facendo attenzione a evitare di schizzarne il contenuto.
5. Rimettere saldamente il tappo sulla provetta di trasporto del tampone.
6. Ripetere i procedimenti da 2 a 5 per ciascuna area per la quale va eseguito un tampone.

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

Interpretazione del test – CQ/Risultati relativi ai pazienti

A. Interpretazione del test

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

Interpretazione del test	RLU totali (x1.000)
Negativo	Da 0* a < 50
Dubbio	Da 50 a < 100
Positivo con RLU basse ^{1,2}	Da 100 a < 5.000
Positivo ^{1,2}	Da 5.000 < 12.000
Non valido	0* oppure > 12.000

*La presenza di un risultato con RLU pari a zero (0 x 1.000) nel report della sessione analitica indica un valore tra zero e 999 RLU. Valori di RLU inferiori a 690 sul Panther System saranno riportati come non validi.

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

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

B. Risultati di controllo della qualità e accettabilità

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

I controlli positivi devono produrre i seguenti risultati del test:

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

*La presenza di un risultato con RLU pari a zero (0 x 1.000) nel report della sessione analitica indica un valore tra zero e 999 RLU. Valori di RLU inferiori a 690 sul Panther System saranno riportati come non validi.

1. Il software del test Aptima Assay valuta automaticamente i controlli rispetto ai criteri indicati sopra e referta lo stato della sessione analitica come PASS (superata) se i criteri di controllo della sessione sono soddisfatti, e come FAIL (non riuscita) se i criteri di controllo della sessione non vengono soddisfatti.
2. Se il Run Status (Stato sessione) è FAIL (non riuscita), tutti i risultati dell'analisi nella stessa sessione sono non validi e non vanno refertati.
3. Ciascun laboratorio deve applicare le appropriate procedure di controllo per soddisfare i requisiti dei regolamenti CLIA.
4. I controlli negativi potrebbero non essere efficaci nel monitoraggio di contaminazione crociata casuale. Consultare la sezione *Prestazioni analitiche* per i risultati di uno studio sulla contaminazione crociata analitica ad alto target, svolto per dimostrare il controllo della contaminazione crociata sul Panther System.

C. Controllo della preparazione dei campioni (opzionale)

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

D. Risultati del test dei pazienti

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

a. Risultati iniziali

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

b. Risultati della ripetizione del test

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

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

Note

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

Limiti

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

- M. Le prestazioni del kit di trasferimento dei campioni Aptima non sono state valutate relativamente all'analisi dello stesso campione per Pap test in soluzione PreservCyt sia prima sia dopo il trattamento del campione per Pap test ThinPrep.
- N. I campioni per Pap test raccolti nella soluzione PreservCyt trattati con strumenti diversi dal processore ThinPrep non sono stati valutati.
- O. I campioni biologici di tampone vaginale raccolti dalla paziente rappresentano un'opzione di screening per le pazienti quando non è altrimenti indicato un esame pelvico.
- P. L'applicazione del campione di tampone vaginale raccolto dalla paziente si limita a contesti clinici in cui sia disponibile il supporto/la consulenza per spiegare le precauzioni e le procedure da seguire.
- Q. Le prestazioni del test Aptima CT Assay non sono state valutate in soggetti di età inferiore ai 14 anni.
- R. Le prestazioni del Panther System non sono state valutate ad altitudini superiori a 2.000 m.
- S. Non vi sono prove di degradazione degli acidi nucleici in soluzione PreservCyt. Se un campione per Pap test raccolto in soluzione PreservCyt presenta quantità ridotte di materiale cellulare di CT, la distribuzione di tale materiale potrebbe risultare disomogenea. Inoltre, quando confrontato al campionamento diretto con il terreno di trasporto del tampone Aptima, il volume aggiuntivo di soluzione PreservCyt determina una maggiore diluizione del materiale campione. Questi fattori possono avere un impatto sulla capacità di rilevare numeri ridotti di organismi nel materiale raccolto. Se i risultati negativi derivanti dal campione non rispecchiassero l'impressione clinica, potrebbe essere necessario un nuovo campione.
- T. Ciascun cliente deve convalidare in modo indipendente un processo di trasferimento al LIS (Laboratory Information System/Sistema di informazioni del laboratorio).

Risultati degli studi clinici

Le prestazioni del test Aptima CT Assay sono state stabilite nel corso di tre indagini cliniche multicentriche condotte in Nord America. La prima indagine ha stabilito la sensibilità, la specificità e i valori predittivi del test Aptima CT Assay usando campioni di tampone endocervicale, vaginale e uretrale maschile raccolti da un medico, campioni di tampone vaginale raccolti da pazienti e campioni di urina maschile e femminile. Durante la seconda indagine sono stati determinati la sensibilità, la specificità e i valori predittivi del test Aptima CT Assay usando la soluzione PreservCyt (componente del sistema ThinPrep®).

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

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

Valori attesi

Prevalenza

La prevalenza della malattia da CT nelle popolazioni dei pazienti dipende da fattori di rischio come età, genere, la presenza di sintomi, il tipo di clinica e il metodo di analisi. Le Tabelle 1a e 1b mostrano una sintesi della positività della CT, per tipo di campione, come determinato dal test Aptima CT Assay sul DTS System per due indagini cliniche multicentriche per centro clinico e complessiva. La Tabella 1c riassume la positività della CT per il test Aptima CT Assay sul Panther System sulla base di un'ulteriore indagine clinica multicentrica.

Tabella 1a: Positività di C. trachomatis per centro clinico e complessiva come determinato dai risultati del test Aptima CT Assay sul DTS System.

Centro	% (N. positivi / N. analizzati)											
	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)
Tutti	20,0	(264/1321)	18,8	(248/1.322)	15,4	(224/1455)	13,1	(191/1458)	15,3	(219/1435)	16,2	(237/1461)

MS = Tampone uretrale maschile; **MU** = Urina maschile; **FS** = Tampone endocervicale femminile; **FU** = Urina femminile; **PVS** = Tampone vaginale raccolto dalla paziente; **CVS** = Tampone vaginale raccolto da un medico.

Tabella 1b: Positività di C. trachomatis per centro clinico e complessiva come determinato dai risultati del test Aptima CT Assay sul sistema DTS utilizzando campioni per Pap test raccolti nella soluzione PreservCyt

Centro	% (N. positivi / N. analizzati)	
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)
Tutti	6,3	(104/1647)

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

Centro	% (N. positivi/N. analizzati)		
	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)
Tutti	8,2 (186/2265)	7,3 (160/2186)	7,4 (146/1964)

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

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

I valori predittivi positivi e negativi stimati (VPP e VPN) per i diversi tassi di prevalenza ipotetici utilizzando il test Aptima CT Assay sul DTS System sono presentati nella Tabella 2a. Questi calcoli sono basati sui tassi di prevalenza ipotetici e sulla sensibilità e specificità complessive desunte dallo stato di infezione dei pazienti per tre studi clinici multicentrici. La sensibilità e la specificità complessive per il test Aptima CT Assay sul DTS System sono state rispettivamente del 96,7% e del 96,8% (Tabella 2a). Il VPP e il VPN effettivi per i campioni di tampone endocervicale, vaginale e uretrale maschile raccolti dal medico, di tampone vaginale raccolti dalla paziente e di urina maschile e femminile raccolti dai/dalle pazienti sono illustrati nella Tabella 6a per ogni centro clinico e complessivi. Il VPP e il VPN effettivi per i campioni per Pap test raccolti nella soluzione PreservCyt utilizzando il test Aptima CT Assay sul sistema DTS sono riportati nella Tabella 6b.

Tabella 2a: Valori predittivi positivi e negativi per i tassi di prevalenza ipotetici sul DTS System

Tasso di prevalenza ipotetica (%)	Sensibilità (%)	Specificità (%)	VPP (%)	VPN (%)
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

Il VPP e il VPN stimati del test Aptima CT Assay sul Panther System rispetto a diversi tassi di prevalenza ipotetici sono mostrati per ciascun tipo di campione nella Tabella 2b. Per ciascun tipo di campione, il VPP e il VPN sono derivati da diversi tassi di prevalenza ipotetici utilizzando le stime sulla sensibilità e specificità complessive dello studio clinico multicentrico (consultare la Tabella 8).

Tabella 2b: Valori predittivi positivi e negativi per i tassi di prevalenza ipotetici per tipo di campione sul Panther System

Campione biologico	Tipo	Prevalenza ipotetica						
		1%	2%	5%	10%	15%	20%	25%
PVS	VPP (%)	66,7	80,2	91,2	95,6	97,2	98,0	98,5
	VPN (%)	100	99,9	99,7	99,5	99,1	98,8	98,4
FU	VPP (%)	69,1	81,9	92,1	96,1	97,5	98,2	98,7
	VPN (%)	100	100	99,9	99,8	99,7	99,5	99,4
MU	VPP (%)	78,4	88,0	95,0	97,6	98,4	98,9	99,2
	VPN (%)	100	100	99,9	99,8	99,8	99,7	99,5

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

Distribuzione delle RLU del DTS System per il test Aptima CT Assay

Figura 2 mostra la distribuzione delle RLU per il test Aptima CT per tutti i campioni di tampone endocervicale, vaginale e uretrale maschile raccolti da un medico, i campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente e i campioni di urina maschile e femminile raccolti dai/dalle pazienti. La Tabella 3 riepiloga la distribuzione delle RLU per i risultati totali positivi e totali negativi, nonché i risultati falsi positivi e falsi negativi per ciascun tipo di campione. Per quanto concerne determinati tipi di campioni, si registra una tendenza verso proporzioni crescenti di risultati veri positivi parallelamente all'aumento dei valori delle RLU.

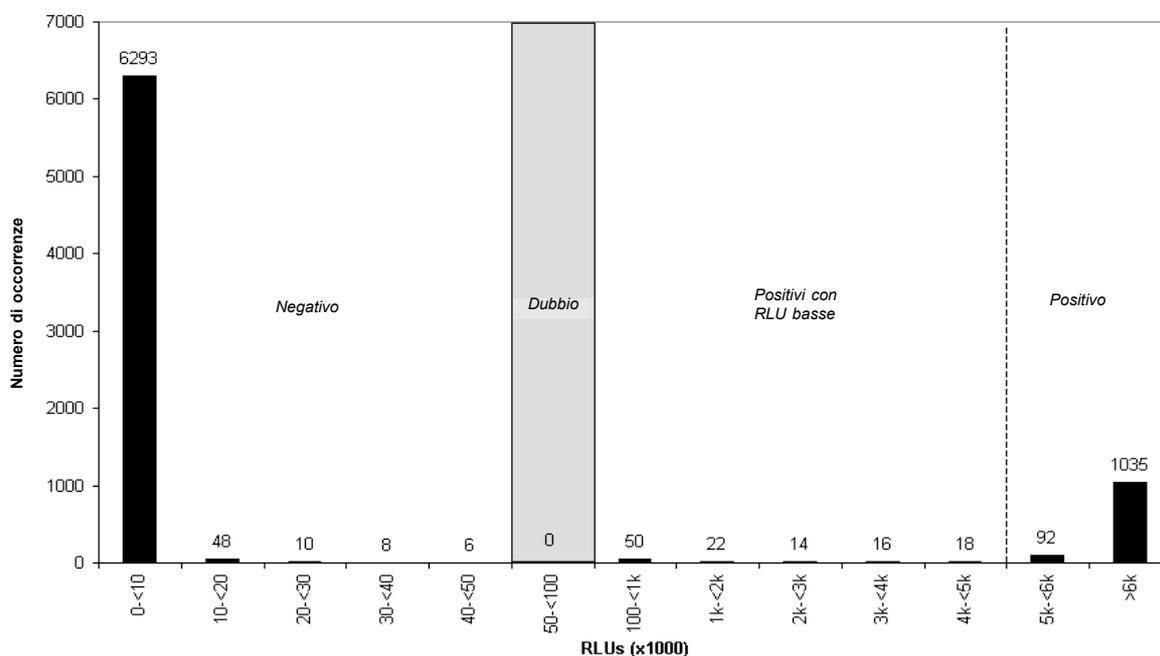


Figura 2. Frequenza di distribuzione delle RLU per il test Aptima CT Assay sul DTS System

Tabella 3: Distribuzione delle RLU per il test Aptima CT Assay sul DTS System

	RLU (x 1000)												
	0 < 10	10 < 20	20 < 30	30 < 40	40 < 50	50 < 100	100 < 1.000	1.000 < 2.000	2.000 < 3.000	3000 < 4000	4.000 < 5.000	5.000 < 6.000	> 6.000
Totale positivi						0	50	22	14	16	18	92	1035
Totale falsi positivi						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
Totale negativi	6293	48	10	8	6	0							
Totale falsi negativi	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 = Tampone vaginale raccolto da un medico; **PVS** = Tampone vaginale raccolto dalla paziente asintomatica; **FS** = Tampone endocervicale femminile;

MS = Tampone uretrale maschile; **FU** = Urina femminile; **MU** = Urina maschile; **RLU** = unità di luce relativa.

La colonna grigia denota una zona dubbia.

Prestazioni cliniche del DTS System

Studio sui campioni clinici — Campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile, di tampone vaginale e di urina

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

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

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

Per calcolare la sensibilità e la specificità sono stati usati in totale 8.406 risultati del test Aptima CT Assay. La sensibilità e la specificità per CT in base a sesso, tipo di campione e stato sintomatico sono illustrate nella Tabella 4. La Tabella 6a mostra i valori di sensibilità, specificità e predittivi del test Aptima CT Assay confrontati allo stato di infezione del paziente per ciascun centro clinico e complessivi. Le tabelle 6b-6f riepilogano il numero di risultati derivanti da soggetti sintomatici e asintomatici designati come infetti o non infetti da CT in base all'algoritmo dello stato di infezione del paziente.

Tra i 2.787 soggetti iscritti, 13 pazienti mostravano stato di infezione CT sconosciuto. I pazienti sono stati designati con uno stato di infezione del paziente non noto se mancavano risultati che impedivano la determinazione conclusiva dello stato di infezione. I risultati relativi

a questi soggetti non sono stati inclusi in alcun calcolo sulle prestazioni. Degli 8.452 risultati del test Aptima CT Assay derivanti dallo studio clinico multicentrico, una piccola percentuale di campioni (8, cioè lo 0,09%) ha inizialmente prodotto risultati non validi all'analisi di CT. Alla ripetizione dell'analisi, non si sono registrati risultati dubbi o non validi.

Tabella 4: Sensibilità e specificità del test Aptima CT rispetto allo stato di infezione pazienti per stato sintomatico e complessive

Campione biologico	Stato dei sintomi	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilità (CI al 95%)	Specificità (CI al 95%)	
Maschile	Tampone	Sintomatico	576	131	23 ^a	418	4	97,0 (92,6-99,2)	94,8 (92,3-96,7)
		Asintomatico	745	90	20 ^b	634	1	98,9 (94,0-100)	96,9 (95,3-98,1)
		Tutti	1321	221	43 ^c	1052	5	97,8 (94,9-99,3)	96,1 (94,7-97,1)
	Urina	Sintomatico	576	127	14 ^d	427	8	94,1 (88,7-97,4)	96,8 (94,7-98,3)
		Asintomatico	746	90	17 ^e	638	1	98,9 (94,0-100)	97,4 (95,9-98,5)
		Tutti	1322	217	31 ^f	1.065	9	96,0 (92,6-98,2)	97,2 (96,0-98,1)
Femminile	Tampone	Sintomatico	807	114	28 ^g	664	1	99,1 (95,3-100)	96,0 (94,2-97,3)
		Asintomatico	636	59	22 ^h	553	2	96,7 (88,7-99,6)	96,2 (94,3-97,6)
		Tutti	1.443	173	50 ⁱ	1217	3	98,3 (95,1-99,6)	96,1 (94,8-97,1)
	Urina	Sintomatico	809	107	13 ^j	682	7	93,9 (87,8-97,5)	98,1 (96,8-99,0)
		Asintomatico	639	58	13 ^k	565	3	95,1 (86,3-99,0)	97,8 (96,2-98,8)
		Tutti	1.448	165	26 ^l	1247	10	94,3 (89,7-97,2)	98,0 (97,0-98,7)
Raccolto da paziente	Vaginale Tampone	Asintomatico	629	60	25 ^m	543	1	98,4 (91,2-100)	95,6 (93,6-97,1)
Raccolto da un medico	Vaginale Tampone	Sintomatico	811	111	33 ⁿ	663	4	96,5 (91,3-99,0)	95,3 (93,4-96,7)
		Asintomatico	638	60	32 ^o	545	1	98,4 (91,2-99,0)	94,5 (92,3-96,2)
		Tutti	1.449	171	65 ^p	1.208	5	97,2 (93,5-99,1)	94,9 (93,5-96,0)

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

Risultati CT per test Aptima Combo 2 Assay: n. di risultati positivi/n. di campioni analizzati: a: 9/23; b: 14/20; c: 23/43; d: 6/14; e: 6/17; f: 12/31; g: 14/28; h: 11/22; i: 25/50; j: 7/13; k: 5/13; l: 12/26; m: 15/25; n: 17/33; o: 15/32; p: 32/65.

Studio dei campioni clinici: Pap test in soluzione PreservCyt

Uno studio clinico prospettico multicentrico è stato condotto per valutare l'uso della soluzione PreservCyt (un componente del sistema ThinPrep) come terreno alternativo per i campioni ginecologici per il rilevamento di CT mediante il test Aptima CT Assay. Nello studio clinico sono stati valutati milleseicentoquarantasette (1.647) soggetti di sesso femminile sintomatici e asintomatici, frequentatori di cliniche ginecologiche, per il controllo delle nascite, per la salute pubblica, per donne e per malattie a trasmissione sessuale. Delle 1.647 pazienti disponibili, 1.288 erano pazienti asintomatiche e 359 pazienti sintomatiche. Le pazienti erano state iscritte da centri con prevalenze di CT comprese tra 2,8% e 14,0%.

Da ogni paziente idonea sono stati raccolti due campioni: un campione per Pap test raccolto in soluzione PreservCyt e un campione di tampone endocervicale. I campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt sono stati prelevati mediante l'uso di una spatola ginecologica/spazzolino per citologia o di un dispositivo di raccolta a forma di scopa per il prelievo endocervicale. La Tabella 5a illustra la distribuzione dei dispositivi di campionamento cervicale secondo il centro di raccolta dei campioni e complessiva.

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

La sensibilità e la specificità del test Aptima CT Assay in campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt sono state calcolate confrontando i risultati a un algoritmo dello stato di infezione delle pazienti. Nell'algoritmo erano stati inclusi i risultati relativi al test Combo 2 Aptima e al test Aptima CT Assay per i campioni di tampone endocervicale. Per stabilire lo stato di infezione delle pazienti, entrambi i NAAT di riferimento dovevano essere positivi. Per ritenere una paziente non infetta, almeno una delle due NAAT di riferimento doveva essere negativa. La Tabella 6g riassume la frequenza degli esiti delle analisi per i due NAAT di riferimento.

La Tabella 5b mostra le sensibilità e le specificità del test Aptima CT Assay in relazione allo stato sintomatico e complessiva. La sensibilità complessiva è risultata del 95,6% (86/90). Nelle pazienti sintomatiche e asintomatiche, la sensibilità è stata rispettivamente del 96,7% (29/30) e del 95,0% (57/60). La specificità complessiva è risultata del 98,8% (1.539/1.557). Nelle pazienti sintomatiche e asintomatiche, la specificità è stata rispettivamente del 98,8% (325/329) e del 98,9% (1.214/1.228).

La Tabella 6b mostra le sensibilità e le specificità del test Aptima CT Assay in relazione al centro di raccolta dei campioni e complessive. I valori della sensibilità sono risultati tra il 92,9% e il 100%. La specificità è risultata compresa tra il 96,5% e il 100%.

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

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

Tabella 5b: Sensibilità e specificità del test Aptima CT Assay con i campioni per Pap test raccolti nella soluzione PreservCyt rispetto allo stato di infezione pazienti per stato sintomatico e complessive

Campione biologico	Risultato soluzione PreservCyt con Aptima CT	Risultato soluzione PreservCyt con Aptima CT				Sensibilità (%) (CI al 95%)	Specificità (%) (CI al 95%)
		+/+	+/-	-/+	-/-		
Sintomatico	Positivo	29	0	1	3	96,7 (29/30) (82,8-99,9)	98,8 (325/329) (96,9-99,7)
	Negativo	1	3	3	319		
	Totale	30	3	4	322		
Asintomatico	Positivo	57	0	1	13	95,0 (57/60) (86,1-99,0)	98,9 (1.214/1.228) (98,1-99,4)
	Negativo	3	2	11	1201		
	Totale	60	2	12	1.214		
Tutti	Positivo	86	0	2	16	95,6 (86/90) (89,0-98,8)	98,8 (1539/1557) (98,2-99,3)
	Negativo	4	5	14	1520		
	Totale	90	5	16	1536		

CI = Intervallo di confidenza.

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

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

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

-/- = Risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay/Risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test Aptima CT.

Tabella 6a: Sensibilità, specificità e valori predittivi del test Aptima CT Assay rispetto allo stato di infezione pazienti per centro clinico e complessivi

Campione biologico	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev. (%)	Sensibilità (CI al 95%)	Specificità (CI al 95%)	VPP (%)	VPN (%)	
Tamponi	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
	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
	Tutti	1321	221	43	1052	5	17,1	97,8 (94,9-99,3)	96,1 (94,7-97,1)	83,7	99,4	
Maschile	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	
	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
	Tutti	1322	217	31	1.065	9	17,1	96,0 (92,6-98,2)	97,2 (96,0-98,1)	87,5	99,2	
Femminile	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	
	Tutti	1.443	173	50	1217	3	12,2	98,3 (95,1-99,6)	96,1 (94,8-97,1)	77,6	99,8	
Maschile	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	
	Tutti	1.448	165	26	1247	10	12,1	94,3 (89,7-97,2)	98,0 (97,0-98,7)	86,4	99,2	

Tabella 6a: Sensibilità, specificità e valori predittivi del test Aptima CT Assay rispetto allo stato di infezione pazienti per centro clinico e complessivi (continua)

Campione biologico	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev. (%)	Sensibilità (CI al 95%)	Specificità (CI al 95%)	VPP (%)	VPN (%)
Raccolto da paziente Vaginale Tampone	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
	Tutti	629	60	25	543	1	9,7	98,4 (91,2-100)	95,6 (93,6-97,1)	70,6	99,8
Raccolto da un medico Vaginale Tampone	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
	Tutti	1.449	171	65	1.208	5	12,1	97,2 (93,5-99,1)	94,9 (93,5-96,0)	72,5	99,6

TP = Vero positivo; FP = Falso positivo; TN = Vero negativo; FN = Falso negativo; Prev = prevalenza; VPP = valore predittivo positivo; VPN = valore predittivo negativo; N/D = campione non ottenuto o non disponibile per il test.

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

Centro	Soluzione PreservCyt per Aptima CT Risultato	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Sensibilità (%) (CI al 95%)	Specificità (%) (CI al 95%)	VPP (%)	VPN (%)
1	Positivo	14	0	1	2	14,0	100 (14/14) (76,8-100)	96,5 (83/86) (90,1-99,3)	82,4	100
	Negativo	0	0	0	83					
	Totale	14	0	1	85					
2	Positivo	4	0	0	0	3,2	100 (4/4) (39,8-100)	100 (120/120) (97,0-100)	100	100
	Negativo	0	0	2	118					
	Totale	4	0	2	118					
3	Positivo	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
	Negativo	2	0	2	436					
	Totale	31	0	2	442					
4	Positivo	8	0	0	4	2,8	100 (8/8) (63,1-100)	98,6 (275/279) (96,4-99,6)	66,7	100
	Negativo	0	3	1	271					
	Totale	8	3	1	275					

5	Positivo	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
	Negativo	1	1	4	275					
	Totale	14	1	4	278					
6	Positivo	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
	Negativo	1	1	5	337					
	Totale	19	1	6	338					
Tutti	Positivo	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
	Negativo	4	5	14	1520					
	Totale	90	5	16	1536					

CI = Intervallo di confidenza; Prev = prevalenza; VPP = valore predittivo positivo; VPN = valore predittivo negativo.

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

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

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

-/- = Risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 Assay/Risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test Aptima CT.

Tabella 6c: Risultati per i campioni di tampone uretrale e di urina maschile di soggetti infetti o non infetti da *C. trachomatis* in base allo stato di infezione dei pazienti

Stato di infezione pazienti	NAAT 1 (test Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Test Aptima CT Assay		Stato sintomatico		Totale
	MS	MU	MS	MU	MS	MU	Sintomatico	Asintomatico	
	Infetto	+	+	+	+	+	+	96	
Infetto	+	+	+	+	+	-	5	1	6
Infetto	+	+	+	-	+	+	11	7	18
Infetto	+	+	-	+	+	+	13	11	24
Infetto	+	+	-	+	+	-	1	0	1
Infetto	+	+	-	+	-	+	1	0	1
Infetto	+	-	+	+	+	+	2	0	2
Infetto	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infetto	+	-	+	-	+	-	1	0	1
Infetto	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infetto	-	+	-	+	+	+	0	2	2
Infetto	-	+	-	+	-	+	3	1	4
Infetto	-	+	=	+	+	+	0	1	1
Non infetto	+	+	-	-	+	+	4	4	8
Non infetto	+	+	-	-	-	+	1	0	1
Non infetto	+	-	-	-	+	+	1	4	5
Non infetto	+	-	-	-	+	-	4	6	10
Non infetto	+	-	-	-	-	+	1	0	1
Non infetto	+	-	-	-	-	-	3	0	3
Non infetto	-	+	-	-	+	+	1	0	1
Non infetto	-	+	-	-	-	+	0	2	2
Non infetto	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infetto	-	-	+	+	+	+	1	0	1
Non infetto	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Non infetto	-	-	-	-	+	+	1	1	2
Non infetto	-	-	-	-	+	-	11	5	16
Non infetto	-	-	-	-	-	+	4	4	8
Non infetto	-	-	-	-	-	-	403	618	1021
Non infetto	-	-	-	N/A	-	+	0	2	2
Non infetto	-	-	-	N/A	-	-	1	2	3
Non infetto	-	-	-	=	-	-	0	4	4
Non infetto	-	-	=	-	-	-	2	0	2
Non infetto	N/A	-	-	-	N/A	-	0	1	1
Totale							576	746	1322

N/P = Campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi.

MS = Tampone uretrale maschile; **MU** = Urina maschile.

Tabella 6d: Risultati per i campioni di tampone endocervicale e urina femminile di soggetti infetti o non infetti da *C. trachomatis* in base allo stato di infezione delle pazienti

Stato di infezione pazienti	NAAT 1 (test Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Test Aptima CT Assay		Stato sintomatico		Totale
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Sintomatico	Asintomatico	
Infetto	+	+	+	+	+	+	80	43	123
Infetto	+	+	+	+	+	-	1	1	2
Infetto	+	+	+	-	+	+	10	5	15
Infetto	+	+	+	=	+	+	1	0	1
Infetto	+	+	-	+	+	+	9	3	12
Infetto	+	-	+	+	+	+	3	1	4
Infetto	+	-	+	+	+	-	2	2	4
Infetto	+	-	+	-	+	+	2	0	2
Infetto	+	-	+	-	+	-	4	0	4
Infetto	+	-	+	-	+	N/A	1	0	1
Infetto	-	+	+	+	+	+	0	1	1
Infetto	-	+	-	+	+	+	1	3	4
Infetto	-	+	-	+	-	+	1	2	3
Non infetto	+	+	-	-	+	+	1	2	3
Non infetto	+	+	-	N/A	+	+	1	0	1
Non infetto	+	-	-	-	+	+	0	2	2
Non infetto	+	-	-	-	+	-	12	7	19
Non infetto	+	-	-	-	-	-	0	1	1
Non infetto	-	+	-	-	+	+	1	0	1
Non infetto	-	+	-	-	-	+	4	3	7
Non infetto	-	+	-	-	-	-	0	1	1
Non infetto	-	-	+	-	-	-	1	1	2
Non infetto	-	-	-	+	-	-	1	2	3
Non infetto	-	-	-	-	+	+	0	2	2
Non infetto	-	-	-	-	+	-	11	9	20
Non infetto	-	-	-	-	-	+	5	4	9
Non infetto	-	-	-	-	-	-	636	526	1162
Non infetto	-	-	-	-	-	N/A	1	0	1
Non infetto	-	-	-	N/A	-	-	2	3	5
Non infetto	-	-	-	=	-	-	12	10	22
Non infetto	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Non infetto	-	N/A	-	-	-	N/A	1	1	2
Non infetto	N/A	-	-	-	N/A	-	5	4	9
Non infetto	=	-	-	-	+	+	1	0	1
Non infetto	=	-	-	-	+	-	1	0	1
Totale							812	640	1452

N/P = Campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi.

FS = Tampone endocervicale femminile; FU = Urina femminile.

Tabella 6e: Risultati dei tamponi vaginali raccolti da pazienti asintomatiche da soggetti infetti o non infetti da *C. trachomatis* in base allo stato di infezione delle pazienti

Stato di infezione pazienti	NAAT 1 (test Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Test Aptima CT Assay	Totale
	FS	FU	FS	FU	PVS	
Infetto	+	+	+	+	+	44
Infetto	+	+	+	-	+	5
Infetto	+	+	-	+	+	3
Infetto	+	-	+	+	+	3
Infetto	-	+	+	+	+	1
Infetto	-	+	-	+	+	4
Infetto	-	+	-	+	-	1
Non infetto	+	+	-	-	+	2
Non infetto	+	-	-	-	+	4
Non infetto	+	-	-	-	+	1
Non infetto	+	-	-	-	-	2
Non infetto	+	-	-	-	-	3
Non infetto	-	+	-	-	+	2
Non infetto	-	+	-	-	-	2
Non infetto	-	-	+	-	-	1
Non infetto	-	-	-	+	-	2
Non infetto	-	-	-	-	+	5
Non infetto	-	-	-	-	+	10
Non infetto	-	-	-	-	-	15
Non infetto	-	-	-	-	-	500
Non infetto	-	-	-	-	-	1
Non infetto	-	-	-	-	N/A	1
Non infetto	-	-	-	-	N/A	9
Non infetto	-	-	-	N/A	-	2
Non infetto	-	-	-	N/A	N/A	1
Non infetto	-	-	-	=	-	1
Non infetto	-	-	-	=	-	8
Non infetto	-	-	-	=	-	1
Non infetto	-	-	=	-	-	1
Non infetto	-	N/A	-	-	-	1
Non infetto	N/A	-	-	-	+	1
Non infetto	N/A	-	-	-	-	3
Totale						640

N/P = Campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi.

FS = Tampone endocervicale femminile; **FU** = Urina femminile. **PVS** = Tampone vaginale raccolto da un medico.

Tabella 6f: Risultati per i campioni di tampone vaginale raccolti da un medico per soggetti infetti o non infetti da *C. trachomatis* in base allo stato di infezione delle pazienti

Stato di infezione pazienti	NAAT 1 (test Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Test Aptima Assay	Stato sintomatico		Totale
	FS	FU	FS	FU	CVS	Sintomatico	Asintomatico	
Infetto	+	+	+	+	+	76	44	120
Infetto	+	+	+	+	-	2	0	2
Infetto	+	+	+	+	+	2	0	2
Infetto	+	+	+	+	+	1	0	1
Infetto	+	+	+	-	+	8	5	13
Infetto	+	+	+	-	-	1	0	1
Infetto	+	+	+	-	+	1	0	1
Infetto	+	+	+	=	+	1	0	1
Infetto	+	+	-	+	+	9	3	12
Infetto	+	-	+	+	+	5	3	8
Infetto	+	-	+	-	+	7	0	7
Infetto	-	+	+	+	+	0	1	1
Infetto	-	+	-	+	+	1	4	5
Infetto	-	+	-	+	-	1	0	1
Infetto	-	+	-	+	-	0	1	1
Non infetto	+	+	-	-	+	1	2	3
Non infetto	+	+	-	N/A	+	1	0	1
Non infetto	+	-	-	-	+	3	4	7
Non infetto	+	-	-	-	-	0	1	1
Non infetto	+	-	-	-	+	2	2	4
Non infetto	+	-	-	-	-	5	3	8
Non infetto	+	-	-	-	+	1	0	1
Non infetto	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infetto	-	+	-	-	+	5	2	7
Non infetto	-	+	-	-	-	0	2	2
Non infetto	-	-	+	-	-	1	1	2
Non infetto	-	-	-	+	-	1	2	3
Non infetto	-	-	-	-	+	4	5	9
Non infetto	-	-	-	-	-	6	10	16
Non infetto	-	-	-	-	+	16	15	31
Non infetto	-	-	-	-	-	614	500	1114
Non infetto	-	-	-	-	N/A	0	1	1
Non infetto	-	-	-	-	+	0	1	1
Non infetto	-	-	-	-	-	13	9	22
Non infetto	-	-	-	N/A	-	2	2	4
Non infetto	-	-	-	N/A	-	0	1	1
Non infetto	-	-	-	=	+	0	1	1
Non infetto	-	-	-	=	-	12	8	20
Non infetto	-	-	-	=	N/A	0	1	1
Non infetto	-	-	=	-	-	1	1	2
Non infetto	-	N/A	-	-	-	0	1	1

Tabella 6f: Risultati per i campioni di tampone vaginale raccolti da un medico per soggetti infetti o non infetti da *C. trachomatis* in base allo stato di infezione delle pazienti (continua)

Stato di infezione pazienti	NAAT 1 (test Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Test Aptima Assay	Stato sintomatico		Totale
	FS	FU	FS	FU	CVS	Sintomatico	Asintomatico	
Non infetto	-	N/A	-	-	N/A	1	0	1
Non infetto	N/A	-	-	-	-	0	1	1
Non infetto	N/A	-	-	-	-	5	3	8
Non infetto	=	-	-	-	-	2	0	2
Totale						812	640	1452

N/P = Campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi.

FS = Tampone endocervicale femminile; FU = Urina femminile CVS = Tampone vaginale raccolto da un medico.

Tabella 6g: Studio clinico sulla soluzione PreservCyt (risultati sullo stato di infezione di pazienti da campioni di tampone endocervicale)

Stato di infezione pazienti	Tampone endocervicale		Stato sintomatico	
	Test Aptima Combo 2 Assay	Test Aptima CT Assay	Sintomatico	Asintomatico
Infetto	Positivo	Positivo	30	60
Non infetto	Negativo	Negativo	322	1.214
Non infetto	Negativo	Positivo	4	12
Non infetto	Positivo	Negativo	3	2
Totale			359	1288

Distribuzione delle RLU per i controlli Aptima

La distribuzione delle RLU per Controllo positivo, GC/Controllo negativo, CT e Controllo positivo Aptima, CT/Controllo negativo, GC derivante da tutte le sessioni di test Aptima CT Assay eseguite durante gli studi clinici sui campioni è presentata nella Tabella 7.

Tabella 7: Distribuzione delle RLU dei Controlli Aptima durante gli studi su campioni clinici comprendenti tamponi endocervicali, vaginali e uretrali maschili, e campioni di urina maschile e femminile, e durante gli studi sui campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt

Controllo	Statistica	RLU (x1.000)	
		Studio clinico sui campioni di tampone e di urina	Studio clinico relativo ai campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt
	N	198	209
	Media	0,89	1,22
	DS	2,94	2,63
Controllo positivo, GC/Controllo negativo, CT	Massimo	26	36
	75° percentile	1	1
	Mediana	0	1
	25° percentile	0	1

Tabella 7: Distribuzione delle RLU dei Controlli Aptima durante gli studi su campioni clinici comprendenti tamponi endocervicali, vaginali e uretrali maschili, e campioni di urina maschile e femminile, e durante gli studi sui campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt (continua)

Controllo	Statistica	RLU (x1.000)	
		Studio clinico sui campioni di tampone e di urina	Studio clinico relativo ai campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt
Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC	N	198	209
	Media	7.007	6.593
	DS	776	709
	Massimo	8.884	10.383
	75° percentile	7.440	7.025
	Mediana	7.066	6.661
	25° percentile	6.621	6.205
	Minimo	988	4.419

DS = deviazione standard; **CV%** = Coefficiente di variazione percentuale; **RLU** = Unità di Luce relativa.

Nota: il valore di RLU riportato dal software ha costituito la base per l'analisi. Il valore di RLU riportato è dato dalle RLU totali misurate diviso per 1.000 con arrotondamento delle cifre decimali.

Prestazioni cliniche del Panther System

Studio clinico

È stato condotto uno studio clinico prospettico, multicentrico, per stabilire le caratteristiche delle prestazioni cliniche del test Aptima CT Assay sul Panther System. Sono stati raccolti campioni da 4.413 donne e uomini sintomatici e asintomatici partecipanti allo studio presso 11 centri clinici distinti dal punto di vista geografico ed etnico negli Stati Uniti, che includono cliniche ostetriche e ginecologiche, per il controllo delle nascite e per le infezioni sessualmente trasmissibili. I soggetti sono stati classificati come sintomatici se riportavano sintomi. I pazienti sono stati classificati come asintomatici se non riportavano sintomi. Centosessantasei (166) soggetti arruolati non erano valutabili (28 sono stati ritirati e 138 non avevano almeno un campione con un risultato valido non escluso del test Aptima CT Assay e uno stato di infezione conclusivo). Dei 4.247 soggetti valutabili, 2.283 erano donne e 1.964 uomini. L'età media tra i soggetti valutabili dello studio era di 34,5 anni (intervallo = da 14 a 84 anni). I sintomi sono stati riportati nel 45,7% (1.939/4.247) dei soggetti valutabili.

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

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

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

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

Dei campioni raccolti, 6.592 sono stati trattati in sessioni valide del test Aptima CT Assay, tra cui 213 (3,2%) che hanno dovuto essere nuovamente analizzati a causa di risultati non validi. Nel complesso, 6.561 (99,5%) hanno avuto risultati finali validi e 31 (0,5%) hanno avuto risultati finali non validi e sono stati esclusi dalle analisi. Un totale di 6.415 campioni provenienti da 4.247 soggetti valutabili sono stati inclusi nelle analisi che confrontavano i risultati del test Aptima CT Assay con il PIS: 2.265 campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente, 2.186 campioni di urina femminile e 1.964 campioni di urina maschile.

Risultati delle prestazioni

Le caratteristiche prestazionali del test Aptima CT Assay sono state stimate per ciascun tipo di campione. Tabella 8 mostra la sensibilità, la specificità, il VPP e il VPN del test Aptima CT Assay sul Panther System e la prevalenza di *C. trachomatis* (in base al PIS specifico del campione) in ciascun tipo di campione in base allo stato dei sintomi e complessivi.

Tabella 8: Caratteristiche delle prestazioni del test Aptima CT Assay per stato sintomatico

Campione biologico Tipo	Stato dei sintomi	N	TP	FP ¹	TN	FN ²	Prev %	Sensibilità (CI al 95%) ³	Specificità (CI al 95%) ³	VPP % (CI al 95%) ⁴	VPN % (CI al 95%) ⁴
PVS	Tutti	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)
	Sint	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)
	Asint	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	Tutti	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)
	Sint	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)
	Asint	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	Tutti	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)
	Sint	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)
	Asint	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)

Asin = Asintomatico, **CI** = Intervallo di confidenza; **FN** = Falso negativo; **FP** = Falso positivo; **FU** = Urina femminile; **MU** = Urina maschile; **Prev** = Prevalenza; **PVS** = Tampone vaginale raccolto dalla paziente; **Sin** = Sintomatico; **TN** = Vero negativo; **TP** = Vero positivo; **VPP** = valore predittivo positivo; **VPN** = valore predittivo negativo.

¹I campioni dello stesso tipo, se non diversamente specificato, sono stati testati anche con un test NAAT per *C. trachomatis* alternativo con i seguenti risultati (n. di risultati positivi/n. di campioni analizzati): ^a1/6, ^b1/4, ^c2/7, ^d0/2, ^e0/4, ^f0/1.

²I campioni dello stesso tipo, se non diversamente specificato, sono stati testati anche con un test NAAT per *C. trachomatis* con i seguenti risultati (n. di risultati negativi/n. di campioni analizzati): ^a1/6, ^b1/3, ^c1/1, ^d2/2, ^e1/1, ^f0/1.

³Punteggio CI.

⁴CI percentile ottenuto utilizzando il metodo di ricampionamento bootstrap con 2.000 iterazioni.

Tabella 9 mostra la sensibilità, la specificità, il VPP e il VPN del test Aptima CT Assay sul Panther System e la prevalenza di *C. trachomatis* (in base al PIS specifico del campione) in ciascun tipo di campione in base al centro di raccolta. Come previsto, la prevalenza variava tra i centri di raccolta.

Tabella 9: Caratteristiche delle prestazioni del test Aptima CT Assay per centro di raccolta

Campione biologico Tipo	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev %	Sensibilità in % (CI al 95%) ¹	Specificità in % (CI al 95%) ¹	VPP % (CI al 95%) ²	VPN % (CI al 95%) ²
PVS	1	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)
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 = Intervallo di confidenza; FN = Falso negativo; FP = Falso positivo; FU = Urina femminile; MU = Urina maschile; NC = Non calcolabile; Prev = Prevalenza; PVS = Tampone vaginale raccolto dalla paziente; TN = Vero negativo; TP = Vero positivo; VPP = valore predittivo positivo; VPN = valore predittivo negativo.

¹ Punteggio CI.

² CI percentile ottenuto utilizzando il metodo di ricampionamento bootstrap con 2.000 iterazioni. Per alcuni centri di raccolta la statistica non è calcolabile in alcuni campioni bootstrap a causa del denominatore pari a zero; il valore di CI percentile viene calcolato utilizzando i campioni bootstrap in cui è possibile calcolare la statistica. Se in tutti i campioni bootstrap la statistica non è calcolabile o se il valore della statistica è costante in tutti i campioni bootstrap in cui è possibile calcolare la statistica, il valore di CI bootstrap percentile al 95% viene impostato su NC.

Tabelle dello stato di infezione da *Chlamydia trachomatis*

La frequenza dei risultati prodotti dal test NAAT di riferimento e dalle analisi sul Panther System in fase di sperimentazione, è riassunta nelle Tabella 10a e Tabella 10b.

Tabella 10a: Stato di infezione da *C. trachomatis* per campioni di urina femminile e maschile

Campione biologico Tipo	Stato di infezione paziente	NAAT 1	NAAT 2	NAAT 3	Test ACT	Stato sintomatico	
						Sintomatico	Asintomatico
FU	Infetto	+	+	N/A	+	66	75
	Infetto	+	+	N/A	-	1	0
	Infetto	+	NR	+	+	2	0
	Infetto	-	+	+	+	4	2
	Infetto	-	+	+	-	0	1
	Infetto	NR	+	+	+	2	0
	Infetto	NR	+	+	-	0	1
	Non infetto	+	-	-	-	1	1
	Non infetto	-	+	-	+	3	1
	Non infetto	-	+	-	-	3	1
	Non infetto	-	-	N/A	+	4	1
	Non infetto	-	-	N/A	-	929	1023
	Non infetto	-	NR	-	-	0	1
	Non infetto	NR	-	-	-	35	29
MU	Infetto	+	+	N/A	+	83	55
	Infetto	+	+	N/A	-	0	1
	Infetto	+	-	+	+	1	0
	Infetto	-	+	+	+	0	1
	Infetto	-	+	+	-	1	0
	Infetto	NR	+	+	+	1	0
	Non infetto	-	+	-	+	0	1
	Non infetto	-	+	-	-	3	1
	Non infetto	-	-	N/A	+	4	0
	Non infetto	-	-	N/A	-	702	1046
	Non infetto	-	NR	-	-	2	0
	Non infetto	NR	-	-	-	31	31

Test ACT = Test Aptima Chlamydia trachomatis Assay; **FU** = Urina femminile; **MU** = Urina maschile; **N/D** = Non applicabile; **NR** = Nessun risultato.

Tabella 10b: Stato di infezione *C. trachomatis* per i campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente

Stato di infezione pazienti	NAAT 1		NAAT 2		Test ACT	Stato sintomatico	
	PVS	FU	PVS	FU		Sintomatico	Asintomatico
Infetto	+	+	+	+	+	60	72
Infetto	+	+	+	+	-	2	2
Infetto	+	+	+	-	+	3	1
Infetto	+	+	+	NR	+	2	0
Infetto	+	-	+	+	+	10	5
Infetto	+	-	+	+	-	1	0
Infetto	+	-	+	-	+	9	6
Infetto	+	NR	+	+	+	0	1
Infetto	+	NR	+	+	-	1	0
Infetto	+	NR	+	-	-	1	0
Infetto	-	+	+	+	+	4	1
Infetto	-	+	-	+	+	1	0
Infetto	-	+	-	+	-	1	1
Infetto	NR	+	+	+	+	0	1
Non infetto	+	-	-	-	+	3	0
Non infetto	+	-	-	-	-	2	6
Non infetto	-	-	+	+	-	0	1
Non infetto	-	-	+	-	+	0	1
Non infetto	-	-	+	-	-	1	1
Non infetto	-	-	-	+	-	2	0
Non infetto	-	-	-	-	+	3	3
Non infetto	-	-	-	-	-	904	996
Non infetto	-	-	NR	-	-	13	10
Non infetto	-	-	NR	NR	-	0	1
Non infetto	-	NR	-	-	-	35	25
Non infetto	NR	-	-	-	-	3	5
Non infetto	NR	NR	-	-	-	41	24

Test ACT = Test Aptima Chlamydia trachomatis Assay; **FU** = Urina femminile; **NR** = Nessun risultato; **PVS** = Tampone vaginale raccolto dalla paziente.

Distribuzione delle RLU per i controlli del test Aptima Chlamydia trachomatis Assay

La distribuzione dei valori delle RLU per i controlli del test Aptima CT Assay è illustrata nella Tabella 11 da tutte le analisi valide del Panther System eseguite durante lo studio clinico.

Tabella 11: Distribuzione delle RLU per i controlli negativo e positivo del test Aptima CT Assay

Controllo	Statistica	RLU totali (x1.000)
Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC	N	160
	Minimo	3162
	Mediana	6816,5
	Massimo	8818
	%CV	7,83
Controllo positivo, GC/Controllo negativo, CT	N	160
	Minimo	0
	Mediana	2,0
	Massimo	30
	%CV	137,49

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

Nota: il valore di RLU riportato dal software ha costituito la base per l'analisi. Il valore di RLU riportato è dato dalle RLU totali misurate diviso per 1.000 con arrotondamento delle cifre decimali.

Studio sulla riproducibilità

La riproducibilità del test Aptima CT Assay è stata valutata sul Panther System in due laboratori esterni e nella sede Hologic. L'analisi è stata eseguita utilizzando due lotti di reagenti del test e un totale di sei operatori (due per ciascun centro). In ciascun centro, l'analisi è stata eseguita per almeno sei giorni.

L'elemento del pannello negativo era costituito solo da terreno di trasporto del campione (STM). Gli elementi del pannello CT positivo sono stati creati aggiungendo al terreno di trasporto del campione (STM) cellule CT positive diluite nell'STM per ottenere le concentrazioni target appropriate (positivo molto basso, positivo basso o positivo). Le concentrazioni finali di *Chlamydia trachomatis* erano comprese tra 0,25 IFU/ml e 25 IFU/ml.

La concordanza con il risultato previsto è stata 100% per tutti gli elementi del pannello.

La Tabella 12 mostra la variabilità del segnale dei risultati RLU del test per ciascun elemento del pannello tra i diversi centri, operatori e lotti, tra diverse sessioni analitiche, nella stessa sessione analitica e complessiva (totale). Solo i campioni con risultati validi sono stati inclusi nelle analisi.

Tabella 12: Dati dello studio sulla riproducibilità: variabilità del segnale per elemento del pannello

Elemento del pannello	Target Conc. (IFU/ml)	N	Media RLU (x1.000)	Tra centri		Tra operatori		Tra Lotti		Tra sessioni analitiche		Nella stessa sessione analitiche		Totale	
				DS	CV(%)	DS	CV(%)	DS	CV(%)	DS	CV(%)	DS	CV(%)	DS	CV(%)
Negativo	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
Positivo molto basso	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
Positivo basso	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
Positivo medio	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 = Coefficiente di variazione; RLU = Unità di luce relativa; SD = Deviazione standard.

Note: il valore delle RLU riportato dal software è dato dalle RLU totali misurate diviso per 1.000 con arrotondamento delle cifre decimali. la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa. In tali casi, i valori DS e CV sono uguali a 0,0.

¹ Un risultato non valido è stato escluso dall'analisi.

Concordanza dei campioni clinici

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

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

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

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

Duecentocinque tamponi femminili (87 endocervicali e 118 vaginali), 120 tamponi uretrali maschili, 98 campioni di urina femminile, 115 campioni di urina maschile e 116 campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt con risultati positivi e negativi per CT con il test Aptima Combo 2 Assay sono stati selezionati per l'analisi di confronto tra il sistema Tigris DTS e il sistema DTS per il test Aptima CT Assay. I campioni con risultati iniziali non validi o dubbi sono stati rianalizzati usando lo stesso sistema che aveva generato i primi risultati. Un campione di urina femminile che aveva dato risultato iniziale dubbio sui sistemi DTS ha prodotto un risultato finale valido in occasione della nuova analisi. Un campione di urina maschile che aveva dato risultato iniziale non valido sul sistema Tigris DTS ha prodotto un risultato finale valido in occasione della nuova analisi. Un campione di urina femminile che aveva dato un risultato iniziale dubbio sul sistema Tigris DTS, sottoposto a una nuova analisi, è risultato però scaduto, determinando di conseguenza un risultato finale dubbio.

La Tabella 13 mostra le concordanze positiva, negativa e complessive per tutti i risultati abbinati per ciascun tipo di campione in relazione allo stato sintomatico. Nonostante i campioni siano relativamente sbilanciati quanto a stato sintomatico e asintomatico, le concordanze complessive per i soggetti sintomatici sono state pari al 98,5% (131/133) per i tamponi femminili (tamponi endocervicale e vaginale combinati), al 100% (60/60) per i tamponi uretrali maschili, al 98,2% (55/56) per i campioni di urina femminile, al 100% (60/60) per i campioni di urina maschile e al 100% (81/81) per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt. Per i soggetti asintomatici, le concordanze complessive sono state pari rispettivamente al 100% per i 72 tamponi femminili, 60 tamponi uretrali maschili, 42 campioni di urina femminile, 55 campioni di urina maschile e 35 campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt. Per "tutti" i soggetti (sintomatici e asintomatici combinati), le concordanze complessive sono state pari al 99,0% (203/205) per i tamponi femminili (tamponi endocervicale e vaginale combinati), al 100% (120/120) per i tamponi uretrali maschili, al 99,0% (97/98) per i campioni di urina femminile, al 100% (115/115) per i campioni di urina maschile e al 100% (116/116) per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt. Dato il numero relativamente inferiore di campioni provenienti da soggetti asintomatici, le conclusioni non possono essere generalizzabili alle analisi eseguite con il test Aptima CT sul sistema Tigris DTS per i campioni provenienti da soggetti asintomatici.

Fare riferimento alla Tabelle 3 e alla 5b per le stime sulla sensibilità e specificità del Test Aptima CT Assay per le analisi eseguite sui DTS System. Dati gli esiti di concordanza, ci si aspetterebbe che la sensibilità e la specificità del test Aptima CT sul Tigris DTS System fossero simili.

Tabella 13: Studio di concordanza del campione biologico: concordanze positive, negative e complessive in base allo stato sintomatico

Sintomo	Campione biologico	Genere	n	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris-	DTS- Tigris+	DTS- Tigris-	Concordanza % positiva (CI al 95%)	Concordanza % negativa (CI al 95%)	Concordanza % complessiva (CI al 95%)
Sint.	Tampone	Femminile*	133	63	1	1	68	98,4 (91,6-100)	98,6 (92,2-100)	98,5 (94,7-99,8)
		Maschile	60	42	0	0	18	100 (91,6-100)	100 (81,5-100)	100 (94,0-100)
	Urina	Femminile	56	33	0	1 ¹	22	100 (89,4-100)	95,7 (78,1-99,9)	98,2 (90,4-100)
		Maschile	60	41	0	0	19	100 (91,4-100)	100 (82,4-100)	100 (94,0-100)
	PreservCyt Soluzione	Femminile	81	39	0	0	42	100 (91,0-100)	100 (91,6-100)	100 (95,5-100)
	Asint.	Tampone	Femminile*	72	41	0	0	31	100 (91,4-100)	100 (88,8-100)
Maschile			60	23	0	0	37	100 (85,2-100)	100 (90,5-100)	100 (94,0-100)
Urina		Femminile	42	23	0	0	19	100 (85,2-100)	100 (82,4-100)	100 (91,6-100)
		Maschile	55	20	0	0	35	100 (83,2-100)	100 (90,0-100)	100 (93,5-100)
PreservCyt Soluzione		Femminile	35	25	0	0	10	100 (86,3-100)	100 (69,2-100)	100 (90,0-100)
Tutti		Tampone	Femminile*	205	104	1	1	99	99,0 (94,8-100)	99,0 (94,6-100)
	Maschile		120	65	0	0	55	100 (94,5-100)	100 (93,5-100)	100 (97,0-100)
	Urina	Femminile	98	56	0	1 ¹	41	100 (93,6-100)	97,6 (87,4-99,9)	99,0 (94,4-100)
		Maschile	115	61	0	0	54	100 (94,1-100)	100 (93,4-100)	100 (96,8-100)
	PreservCyt Soluzione	Femminile	116	64	0	0	52	100 (94,4-100)	100 (93,2-100)	100 (96,9-100)

Sint. = Sintomatico; Asint. = Asintomatico; CI = Intervallo di confidenza.

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

*Campioni di tampone endocervicale e vaginale combinati.

¹Campione con risultato finale dubbio sul Tigris DTS System.

Prestazioni analitiche

Studio sulla concordanza del pannello clinico arricchito

Singoli campioni negativi di urina sono stati addizionati di sierotipo G di CT allo scopo di creare un pannello di 120 positivi per CT. I componenti del pannello CT positivi sono stati addizionati con organismi a 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml o 25 IFU/ml (0,5 fg/test, 5 fg/test o 50 fg/test). Sono stati inoltre raccolti 120 campioni di urina negativi per CT. I pannelli positivi e negativi sono stati analizzati su tre Panther System e su tre Tigris DTS System. La concordanza percentuale positiva tra il Panther System e il Tigris DTS System è risultata del 100% con un intervallo di confidenza inferiore al 95% di 98,9 per CT. La concordanza percentuale negativa tra il Panther System e i Tigris DTS System è stata del 100% con un intervallo di confidenza inferiore al 95% pari a 98,9. I risultati dello studio sono illustrati nella Tabella 14.

Tabella 14: Studio sulla concordanza del pannello clinico arricchito: concordanza con i risultati attesi per CT

Elemento del pannello	Concentrazione		Replicati	Tigris % Concor.	Panther % Concor.
	IFU/ml	fg/test			
Positivo molto basso	0,25	0,5	120	100	100
Positivo basso	2,5	5	120	100	100
Positivo medio	25	50	120	100	100
Negativo	0	0	360	100	100

Concordanza percentuale positiva complessiva tra Tigris e Panther (CI al 95%): 100% (98,9-100).

Concordanza percentuale negativa complessiva tra Tigris e DTS (CI al 95%): 100% (98,9-100).

Studio sulla sensibilità analitica

La sensibilità analitica (limite di rilevamento) per *C. trachomatis* è stata determinata confrontando direttamente diluizioni di organismi di CT in coltura cellulare e nel test Aptima CT Assay. La dichiarazione di sensibilità analitica per il test è di una unità formante inclusione (IFU) per test (7,25 IFU/tampone, 5 IFU/ml di urina e 9,75 IFU/ml di Pap test in soluzione PreservCyt) per tutti e 15 i sierotipi CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3). Diluizioni inferiori a 1 IFU/test per tutti i sierotipi hanno tuttavia dato risultati positivi.

La sensibilità analitica del test Aptima CT Assay è stata analizzata usando tre matrici di campioni rappresentativi. I campioni in questione erano di urina trattata con terreno di trasporto dell'urina (UTM), campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt diluiti con terreno di trasporto del tampone e STM. Raggruppamenti delle suddette tre matrici sono stati addizionati di CT rRNA alle seguenti concentrazioni di 0,5 fg/test, 5 fg/test e 50 fg/test (equivalenti di rRNA di 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml o 25 IFU/ml). Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ogni organismo. I pannelli sono stati analizzati su tre Panther System usando due lotti di reagente in replicati di 96. È stata calcolata la concordanza positiva con i risultati previsti. La concordanza con i risultati attesi è stata del 100% (CI al 95%, 96,2-100%) per tutti i pannelli di urina, del 100% (CI al 95%, 96,1-100%) per tutti i pannelli di campioni per Pap test raccolti nella soluzione PreservCyt e del 100% (CI al 95%, 96,0-100%) per tutti i pannelli STM. La sensibilità analitica per il test è risultata di 2,5 IFU/ml.

Specificità analitica

Sono stati valutati 154 isolati di coltura in totale usando il test Aptima CT Assay. Questi isolati includevano 86 organismi che potrebbero essere isolati dal tratto urogenitale e 68 ulteriori organismi che rappresentano uno spaccato filogenetico degli organismi. Gli organismi analizzati

includevano batteri, funghi, lieviti, parassiti e virus. Tutti gli organismi, ad eccezione di *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* e dei virus, sono stati analizzati a $1,0 \times 10^6$ cellule/test nel terreno di trasporto KOVA-Trol/dell'urina, mentre 60 organismi sono stati analizzati nel terreno di trasporto del tampone. Gli organismi *Chlamydia* e *Neisseria* sono stati analizzati in terreni di coltura con soluzione PreservCyt. *C. psittaci* VR601 è stato analizzato a $8,0 \times 10^4$ cellule/test e *C. psittaci* VR125 è stato analizzato a $1,0 \times 10^5$ cellule/test. *C. pneumoniae* è stato analizzato a 4×10^3 cellule/test e *U. urealyticum* è stato analizzato a $6,7 \times 10^6$ cellule/test. I virus sono stati analizzati come indicato di seguito: (a) virus dell'herpes simplex I: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) virus dell'herpes simplex II: $6,0 \times 10^4$ TCID 50/test, (c) virus del papilloma umano 16: $2,9 \times 10^6$ DNA copie/test e (d) citomegalovirus: $4,8 \times 10^5$ cellule/test. L'elenco degli organismi analizzati è illustrato nella Tabella 15.

Tabella 15: Specificità analitica

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

(n) = numero dei ceppi analizzati. Tutti gli organismi analizzati hanno dato un risultato negativo nel test Aptima CT Assay.

Studio sull'equivalenza della specificità analitica

Per un test di amplificazione dell'acido nucleico, la specificità analitica rispetto agli organismi singoli è largamente determinata dalla chimica del test (per es. le sequenze oligonucleotidiche) piuttosto che dalla piattaforma. Poiché i reagenti per il test Aptima CT Assay sono identici fra il Panther System, il Tigris DTS System e il DTS System gli esperimenti di specificità analitica sul Panther System sono stati ideati per concentrarsi sugli isolati di coltura più problematici. Questi organismi includevano quelli noti per la loro reattività crociata in altri test di amplificazione. Venticinque (25) isolati di coltura sono stati selezionati dal pannello di organismi nella Tabella 15. Tutti gli organismi analizzati hanno prodotto risultati negativi.

Sostanze interferenti

Le seguenti sostanze interferenti sono state aggiunte singolarmente ai campioni di tampone, ai campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt e/o ai campioni di urina: sangue al 10%, gel contraccettivo, spermicida, idratante, anestetico per emorroidi, olio per il corpo, polveri, crema antimicotica, lubrificanti vaginali, spray femminili e leucociti (1×10^6 cellule/ml). Le seguenti sostanze interferenti sono state aggiunte singolarmente nei campioni di urina: sangue al 30%, analiti dell'urina, proteina, glucosio, chetoni, bilirubina, nitrato, urobilinogeno, pH 4 (acido), pH 9 (alcalino), leucociti (1×10^6 cellule/ml), detriti cellulari, vitamine, minerali, acetaminofene, aspirina e ibuprofene. Tutte sono state testate per una potenziale interferenza con il test in assenza e in presenza di CT all'equivalente stimato di rRNA di 1 cellula/test (5 fg/test). Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ciascun organismo. Non è stata osservata alcuna interferenza con nessuna delle sostanze analizzate. Non si sono rilevati inibitori dell'amplificazione nel test Aptima CT Assay.

Studio sull'equivalenza delle sostanze interferenti

Il sangue riscontrato comunemente nei campioni urogenitali potrebbe interferire in alcuni test di amplificazione. Il sangue intero è stato utilizzato per stabilire il livello di interferenza del sangue sul Panther System per quanto riguarda una potenziale sostanza interferente. Sangue fresco è stato aggiunto ai pool clinici di campioni di tampone vaginale, per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt post-trattamento o di urina, e poi analizzati per la potenziale interferenza al test in presenza e in assenza di CT target. L'equivalente stimato di rRNA di una (1) IFU CT/test (5 fg/test) è stato usato come concentrazione target in quanto rappresenta la sensibilità analitica del test. I campioni sono stati analizzati sul Panther System. Tutti i campioni contenenti acido nucleico target sono risultati positivi quando analizzati a un livello del 10% (vol/vol) di sangue nei campioni di tampone o nei campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt, o del 30% (vol/vol) di sangue nei campioni di urina. Tutti i campioni che non contenevano target sono stati identificati correttamente come negativi. Questi risultati sono identici a quelli dimostrati per il sistema Tigris DTS quando arricchiti delle stesse quantità di sangue. Il sangue aggiunto ai campioni di tampone, campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt e urina a livelli molto superiori a quelli che ci si potrebbe attendere con una normale raccolta di campioni non ha interferito con i risultati del Panther System.

Recupero

Escherichia coli, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus* e *Staphylococcus epidermidis* (1×10^8 cellule/test) stati aggiunti a campioni contenenti l'equivalente di rRNA di circa una CT IFU (5 fg). Queste aggiunte non hanno interferito con l'amplificazione e con il rilevamento dell'rRNA di CT usando il test Aptima CT Assay.

Studio sulla precisione/riproducibilità

La precisione del test Aptima CT Assay è stata valutata in tre sistemi Panther e due lotti di kit di test Aptima CT Assay in un periodo di 24 giorni. I pannelli sono stati creati aggiungendo rRNA di CT al terreno di trasporto del tampone (STM) nelle concentrazioni elencate nella Tabella 16. Gli operatori hanno eseguito due sessioni al giorno analizzando per ciascun elemento del pannello due replicati per sessione. È stata calcolata la concordanza con i risultati previsti ed è stata stimata la precisione secondo le Linee guida NCCLS, documento EP5-A2 (17). Il numero totale di replicati per ciascun pannello era 93-96. La Tabella 16 presenta i dati RLU di precisione in termini di Media, Deviazione standard, Coefficiente di variazione (CV) e concordanza percentuale con i risultati previsti per i calcoli di variabilità fra diversi strumenti, fra diversi lotti, fra diverse sessioni e nell'ambito di una stessa sessione.

Tabella 16: Precisione del Panther System per il test Aptima CT Assay

Matrice	CT (IFU/ml)	N*	RLU media (x1.000)	% Concor.	Tra strumenti diversi		Tra lotti diversi		Tra diverse sessioni		Nella sessione		Totale	
					DS (x1.000)	CV (%)	DS (x1.000)	CV (%)	DS (x1.000)	CV (%)	DS (x1.000)	CV (%)	DS (x1.000)	CV (%)
STM	0	96	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	7.478	100	224,45	3	249,88	3,3	53,1	0,7	164,57	2,2	377,8	5,1
	25	96	7.482	100	222,23	3	233,36	3,1	46,47	0,6	180,29	2,4	372,2	5
Urina	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
Soluzione 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 = unità di luce relativa; % Agrmt = % di concordanza; CV% = percentuale del coefficiente di variazione; DS = deviazione standard. Nota: la variabilità di alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, cosa che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola. Quando questo si verifica, DS = 0 e CV = 0%.

* Numero totale di replicati per pannello = 96 Nelle sessioni selezionate, i singoli replicati non validi non sono stati rianalizzati.

Studio sulla contaminazione crociata

Per stabilire che il Panther System riduce al minimo il rischio di risultati falsi positivi derivanti dalla contaminazione crociata, è stato condotto uno studio analitico di più sessioni utilizzando pannelli arricchiti su tre Panther System. La contaminazione crociata è stata valutata usando circa un 20% di campioni CT ad alto titolo frammisti a campioni negativi. Nelle sessioni sono stati inclusi raggruppamenti di campioni altamente positivi e raggruppamenti di campioni negativi, come pure singoli campioni altamente positivi collocati secondo un pattern specifico nell'ambito della sessione analitica. I campioni ad alto titolo sono stati creati aggiungendo rRNA di CT al terreno di trasporto del tampone (STM) allo scopo di ottenere una concentrazione finale di 5×10^5 fg rRNA/reazione (equivalente di rRNA di $2,5 \times 10^5$ IFU/ml). La valutazione è stata effettuata eseguendo 5 sessioni su tre sistemi Panther con un totale di 2.933 campioni negativi. Il tasso di contaminazione crociata complessiva è risultato dello 0% con un intervallo di confidenza al 95% di 0-0,1%. Nelle sessioni di contaminazione crociata ad alto titolo 7 campioni negativi in tutto sono stati refertati come non validi, e pertanto esclusi dai calcoli.

Studi sulla stabilità dei campioni

A. Campioni di tampone

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni di tampone endocervicale, uretrale e vaginale sono stati generati con campioni di tamponi negativi raggruppati. I campioni raggruppati sono stati addizionati di CT a concentrazioni finali di 1 IFU per reazione. I campioni addizionati sono stati conservati a 4 °C e 30 °C. I campioni sono stati analizzati in duplicato nei giorni 0, 20, 77 e 117. Tutte le condizioni di analisi sono risultate positive per CT in tutti i momenti e a tutte le temperature.

B. Campioni di urina

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni di urina sono stati generati con campioni di urina femminile e maschile negativi. I campioni di urina sono stati addizionati di CT a concentrazioni finali di 10 IFU per reazione. Due serie di campioni di urina arricchiti sono state tenute a 30 °C prima di essere aggiunte al terreno di trasporto dell'urina (UTM). Le due serie di campioni UTM sono state quindi tenute a 4 °C e 30 °C e analizzate in triplicato nei giorni 0, 1, 5, 20 e 35. Tutti i campioni in UTM sono risultati positivi per CT in tutti i momenti.

C. Campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni per Pap test raccolti in soluzione PreservCyt sono stati generati con campioni per Pap test negativi trattati e non trattati. Per i campioni non trattati, sono stati analizzati quattro pool di campioni in soluzione PreservCyt dopo essere stati conservati nella fiala della soluzione PreservCyt. Ogni gruppo di campioni è stato arricchito con 1-10 IFU CT/test, tenuto a 2 °C, 10 °C e 30 °C, e poi analizzato a livello della linea di base e nei giorni 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 e 36. Tutti i campioni arricchiti sono risultati positivi per CT in tutti i momenti e a tutte le temperature.

Per i campioni trattati sono stati utilizzati quattro pool di campioni in soluzione PreservCyt per determinare la stabilità dei campioni trattati a 2 °C-30 °C. Ogni pool di campioni negativi è stato arricchito con 1-10 IFU CT/test, in seguito analizzati al basale. Prima del trattamento, i campioni in soluzione PreservCyt sono stati tenuti a 30 °C per sette (7) giorni per simulare l'intervallo di tempo tra la raccolta dei campioni, il trattamento del Pap test e la spedizione al laboratorio di analisi di microbiologia. Dopo sette giorni a 30 °C, aliquote di 1 ml di ogni pool sono state trasferite su una provetta di trasporto del campione Aptima e analizzate al basale prima di essere poste a 2 °C, 10 °C e 30 °C. I campioni trattati sono stati quindi analizzati per 17 giorni e conservati a 30 °C e 36 giorni conservati a 2 °C-10 °C. Tutti i campioni arricchiti erano risultati positivi a CT in ogni momento e a tutte le temperature.

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

Le condizioni di conservazione raccomandate per il congelamento per i campioni di tamponi endocervicali, di uretra, vaginali, di urina femminile, urina maschile e per Pap test in soluzione PreservCyt in terreni di trasporto sono comprese tra -20 °C e -70 °C al fine di consentire l'analisi fino a 12 mesi successivi alla raccolta. I dati di supporto per ciascuna tipologia di campione sono stati prodotti mediante l'uso di 90 campioni negativi. Di questi, 30 campioni sono stati arricchiti con CT a 1,0 IFU per reazione; 30 campioni sono stati arricchiti a 0,1 IFU per reazione e 30 campioni non sono stati arricchiti. I campioni in terreno di trasporto sono stati conservati congelati entro 7 giorni dalla raccolta, quindi analizzati nei giorni 200 e 400. I campioni hanno soddisfatto i criteri di accettabilità della concordanza del 95% con i risultati previsti.

Bibliografia

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. **Centers for Disease Control and Prevention.** Sexually Transmitted Disease Surveillance 2020. Ultima revisione, martedì 12 aprile 2022. Consultato in data mercoledì 7 dicembre 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 Assay 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. **Frommell, 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 Assay 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. February, 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**:3.072-3.074.

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.* **37**: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.

Recapiti e Cronologia delle revisioni



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

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

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

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

KOVA-TROL è un marchio commerciale di Hycor Biomedical, Inc.

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

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

© 2024 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-29039-701 Rev. 005
2024-09

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-29039 Rev. 005	Aprile 2024	<ul style="list-style-type: none"> Creazione di un documento di IFU del test Aptima CT Assay AW-29039 Rev. 005 (al di fuori degli Stati Uniti) usando le IFU del test Aptima CT Assay AW-29039 Rev. 004. La Rev. 005, al contrario delle Rev. 003 e Rev. 004, sostituirà il documento 502184IT Rev. 010. Correzione di un errore amministrativo nella Tabella 6g.
AW-29039 Rev. 006	Settembre 2024	<ul style="list-style-type: none"> Creazione di un documento conforme al Regolamento IVDR di IFU del test Aptima CT Assay AW-29039 Rev. 006 (al di fuori degli Stati Uniti) usando le IFU del test Aptima CT Assay conformi a detto Regolamento AW-29039 Rev. 005. La Rev. 006, al contrario delle Rev. 005, Rev. 004 e Rev. 003, sostituirà il documento 502184IT Rev. 010. Correzione della sezione SDS di queste IFU. Correzione di un errore amministrativo nella Tabella 3.