

Test Aptima® Chlamydia trachomatis

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine.

Information générale	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principes de la procédure	3
Avertissements et précautions	4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs	7
Collecte et conservation des échantillons	8
Interprétation des tests – CQ/Résultats patients	38
Limites	41
Résultats des études cliniques	43
Valeurs attendues pour les DTS Systems	44
Rendement du test avec les DTS Systems	47
Rendement analytique des DTS Systems	61
Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System ...	65
Rendement analytique du Tigris DTS System	69
Rendement analytique du Panther System	72
Bibliographie	74

DTS™ Systems

DTS Systems	11
Réactifs et matériel fournis	11
Matériel requis mais vendu séparément	12
Matériel optionnel	13
Procédure de test à l'aide des DTS Systems	14
Remarques concernant la procédure	20

Tigris® DTS™ System

Tigris DTS System	24
Réactifs et matériel fournis	24
Matériel requis mais vendu séparément	25
Matériel optionnel	26
Procédure de test pour le Tigris DTS System	27
Remarques concernant la procédure	30

Panther® System

Panther System	31
Réactifs et matériel fournis	31
Matériel requis mais vendu séparément	32
Matériel optionnel	33
Procédure de test pour le Panther System	33
Remarques concernant la procédure	36

Information générale

Usage prévu

Le test Aptima™ pour *Chlamydia trachomatis* est un test par sonde d'acide nucléique pour l'amplification de cible qui utilise la capture de cible pour la détection qualitative in vitro du RNA ribosomique (rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) afin de faciliter le diagnostic des infections à chlamydia de l'appareil génito-urinaire au moyen du Tigris DTS System, du Panther System ou des DTS Systems semi-automatiques, selon les indications. Ce test peut être employé pour analyser les échantillons suivants provenant d'individus symptomatiques : échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et échantillons urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon; échantillons d'urine féminins et masculins. Ce test peut également être employé pour analyser les échantillons suivants provenant d'individus asymptomatiques : échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et échantillons urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon; échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal¹; échantillons d'urine féminins et masculins. Ce test est aussi conçu pour être utilisé pour les tests d'échantillons gynécologiques de patientes symptomatiques ou asymptomatiques. Ces échantillons cervicaux collectés dans les flacons de solution PreservCyt™ peuvent être testés avant ou après le traitement du frottis. Seuls les échantillons traités avec le système ThinPrep™ 2000 peuvent être testés après le frottis.

¹Les échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal offrent une option de dépistage chez les femmes lorsqu'un examen pelvien n'est pas autrement indiqué. Le kit de collecte d'échantillons par écouvillonnage vaginal n'est pas conçu pour une utilisation à domicile.

Résumé et explication du test

Les infections à *Chlamydia trachomatis* représentent l'une des maladies sexuellement transmissibles les plus courantes du monde. En 2016, les CDC (Centers for Disease Control) ont recensé, sur le territoire américain uniquement, un nombre de cas de nouvelles infections à CT estimé à 1 598 354 (497 cas sur 100 000) (5).

Les Chlamydiae sont des bactéries intracellulaires strictes, non motiles et gram-négatives. L'espèce CT se compose de quinze sérotypes (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 et L3) susceptibles de provoquer des maladies chez l'homme (28). Les sérotypes D à K constituent la principale cause d'infections génitales à chlamydia chez l'homme et la femme (20). *C. trachomatis* peut provoquer des urétrites, des épидidymites, des rectites, des cervicites, des salpingites aiguës et des atteintes inflammatoires pelviennes non gonococciques (3, 13, 22, 23). Les infections à *C. trachomatis* sont souvent asymptomatiques aussi bien chez l'homme que la femme. Les enfants nés de mères infectées présentent un risque sensiblement plus élevé de conjonctivites à inclusions et de pneumonies à chlamydia (1, 10, 21).

Traditionnellement, plusieurs méthodes de détection de CT ont été utilisées en laboratoire clinique, notamment la culture de cellules, l'épreuve d'immunofluorescence directe et l'épreuve immunoenzymatique. Parmi les méthodes de détection de CT les plus récentes figurent les tests de sonde de DNA directs ainsi que les tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN). Auparavant, la culture de cellules était considérée comme la « norme de référence » pour la détection de CT. Bien que la méthode par culture cellulaire soit particulièrement précise, de récentes publications ont montré que les TAAN offrent une sensibilité clinique supérieure à la culture cellulaire (2, 8, 14, 24). En raison de sa sensibilité clinique plus faible et d'une performance variable d'un laboratoire à l'autre, la culture a été remplacée dans de nombreux laboratoires par les tests de sonde de DNA directs et les TAAN.

La première génération de TAAN pour CT présentait des problèmes techniques qui en ont limité le rendement. Ces problèmes étaient notamment liés à la difficulté de traitement des échantillons et à leur inhibition pouvant entraîner des résultats faussement négatifs (6, 12, 15, 19, 25, 27). Le test Aptima pour *Chlamydia trachomatis* (test CT Aptima) est un TAAN de deuxième génération qui utilise les techniques de capture de cible, d'amplification par transcription (Transcription-Mediated Amplification, TMA™) ainsi que le test de protection de l'hybridation (Hybridization Protection Assay, HPA) pour simplifier le traitement des échantillons, amplifier le rRNA cible et détecter l'amplicon, respectivement. Des études récentes comparant le rendement et l'inhibition des échantillons de divers systèmes d'amplification ont montré les avantages des techniques de capture de cible, de TMA et de HPA (7, 11).

Conformément aux directives de dépistage de *Chlamydia trachomatis* et de *Neisseria gonorrhoeae* publiées en 2002, les CDC recommandent un certain nombre d'options de suivi après un test de dépistage positif « si l'on peut s'attendre à une valeur prédictive positive faible ou si un résultat faussement positif risque d'entraîner de graves répercussions psychosociales ou légales » (4). L'une de ces options de tests supplémentaires peut consister à utiliser un test d'amplification des acides nucléiques autorisé par la FDA qui ciblerait une autre séquence d'acide nucléique que celle du test initial. Le test CT Aptima cible des séquences d'acides nucléiques différentes de celles ciblées par les autres TAAN pour *C. trachomatis*, y compris le test Aptima Combo 2.

Principes de la procédure

Le test CT Aptima associe les techniques de capture de cible, de TMA et de HPA.

Les échantillons sont collectés et transférés dans leurs tubes de transport d'échantillon respectifs. La solution de transport de ces tubes libère la cible de rRNA et l'empêche de se dégrader pendant la période de conservation. Lorsque le test CT Aptima est effectué en laboratoire, la molécule de rRNA cible est isolée des échantillons à l'aide de microparticules magnétiques et d'un oligomère de capture par la méthode de capture de cible. L'oligomère de capture contient une séquence complémentaire à une région précise de la molécule cible, de même qu'une chaîne de résidus de désoxyadénosine. Lors de l'étape d'hybridation, la région spécifique de la séquence de l'oligomère de capture se fixe sur une région précise de la molécule cible. Le complexe oligomère de capture/cible est ensuite capturé hors de la solution par la réduction de la température de la réaction à température ambiante. Cette réduction de température permet à l'hybridation de se produire entre la région désoxyadénosine de l'oligomère de capture et les molécules de poly-désoxythymidine liées par covalence aux particules magnétiques. Les microparticules, y compris les molécules cibles capturées auxquelles elles sont liées, sont attirées vers la paroi du tube de réaction par des aimants, et le surnageant est aspiré. Les particules sont lavées afin d'éliminer la matrice résiduelle de l'échantillon qui peut contenir des inhibiteurs de la réaction d'amplification. Une fois les étapes de capture de cible terminées, les échantillons sont prêts à l'amplification.

Les tests d'amplification de cible reposent sur la capacité des amorces d'oligonucléotides complémentaires de s'hybrider spécifiquement et de permettre l'amplification enzymatique des brins de l'acide nucléique cible. La réaction TMA de Hologic réplique une région spécifique du rRNA 16S de CT via des intermédiaires de DNA. On utilise un seul jeu d'amorces pour chaque molécule cible. La détection des séquences du produit de l'amplification du rRNA (amplicon) s'effectue par l'hybridation de l'acide nucléique. Une sonde de DNA monocaténaire chimioluminescente, qui est complémentaire à une région de l'amplicon cible, est marquée à l'aide d'une molécule d'ester d'acridinium. La sonde de DNA marquée se combine à l'amplicon pour former des hybrides RNA:DNA stables. Le réactif de sélection différencie la sonde hybridée de celle qui ne l'est pas, éliminant ainsi la génération de signal par la sonde non hybridée. Lors de l'étape de détection, la lumière émise par les

hybrides RNA:DNA marqués est mesurée en signaux de photons dans un luminomètre et exprimée en unités relatives de lumière (Relative Light Units, RLU).

Avertissements et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro*.
- B. Pour tout avertissement, précaution ou procédure complémentaire concernant le contrôle de la contamination avec le Tigris DTS System, consulter le *Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual)*.
- C. Pour tout avertissement, précaution ou procédure complémentaire concernant le contrôle de la contamination pour le Panther System, consulter le *Manuel de l'utilisateur du Panther System (Panther System Operator's Manual)*.

Recommandations concernant les laboratoires

- D. N'utiliser que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- E. Appliquer les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail signalées. Porter des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et une blouse de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Bien se laver les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du kit.
- F. **Avertissement : Irritant et corrosif:** Éviter que la solution Auto Detect 2 entre en contact avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact de ce liquide avec la peau ou les yeux, laver la zone touchée à l'eau. En cas de déversement de ce liquide, diluer le produit répandu à l'eau avant de l'essuyer.
- G. Les plans de travail, les pipettes et le matériel utilisé doivent être régulièrement décontaminés à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

- H. Il est fortement recommandé de réserver un espace de travail spécifique au test HPA pour minimiser la contamination par l'amplicon lors du test. Cette zone de travail devrait être éloignée du lieu de préparation du réactif, de capture de cible et d'amplification.
- I. Pour éviter la contamination des différentes zones du laboratoire par l'amplicon, le sens de travail du laboratoire devrait être unidirectionnel : depuis la préparation des réactifs vers le test HPA. Les échantillons, le matériel et les réactifs ne doivent pas être ramenés là où une étape précédente a été effectuée. De même, le personnel ne devrait pas retourner dans les zones de travail des étapes précédentes sans prendre les précautions adéquates pour éviter toute contamination.

Recommandations concernant les échantillons

- J. Ce test a été réalisé à l'aide d'échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon, d'échantillons en milieu liquide PreservCyt, d'échantillons vaginaux sur écouvillon et d'échantillons d'urine féminins et masculins uniquement. Le rendement du test sur des échantillons autres que ceux spécifiés dans le paragraphe *Collecte et conservation des échantillons* n'a pas été évalué.

- K. Les dates de péremption figurant sur les kits de collecte concernent le site de collecte, et non l'établissement effectuant les tests. Les échantillons collectés avant la date de péremption du kit de collecte, puis transportés et conservés conformément à la notice du test, sont valides pour être testés même si la date de péremption du tube de collecte est dépassée.
- L. La solution PreservCyt a été validée comme milieu de remplacement pour les analyses effectuées avec le test CT Aptima. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt traités à l'aide du processeur ThinPrep 3000 ou d'autres instruments n'ont pas été évalués pour la détection de *Chlamydia trachomatis* au moyen du test CT Aptima.
- M. Une fois l'urine versée dans le tube de transport d'urine, le niveau de liquide de ce tube doit se situer entre les deux lignes indicatrices noires sur l'étiquette du tube. Dans le cas contraire, l'échantillon doit être rejeté.
- N. Observer des conditions de conservation adéquates pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.
- O. Les échantillons peuvent être infectieux. Respecter les précautions universelles lors de la réalisation de ce test. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates. Seul le personnel ayant reçu une formation adéquate pour manipuler des substances infectieuses devrait être autorisé à effectuer cette procédure de diagnostic.
- P. Éviter toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veiller à éviter tout contact entre les différents récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changer de gants en cas de contact avec l'échantillon.
- Q. Si le laboratoire reçoit un tube de transport d'échantillons sur écouvillon ne contenant pas d'écouvillon ou contenant deux écouvillons, un écouvillon de nettoyage ou un écouvillon non fourni par Hologic, l'échantillon doit être rejeté. Avant de rejeter un tube de transport d'échantillons ne contenant pas d'écouvillon, vérifier qu'il ne s'agit pas d'un tube de transfert d'échantillons Aptima étant donné que ce type de tube ne contient pas d'écouvillon.
- R. Dans le cas des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, effectuer leur collecte conformément aux instructions du fabricant. Les aliquotes qui ont été retirées ultérieurement du flacon de PreservCyt pour être analysées au moyen du test CT Aptima doivent être traitées uniquement à l'aide du kit de transfert d'échantillons Aptima.
- S. Si le bouchon d'un tube de transport Aptima venait à être perforé, le liquide pourrait s'écouler sous certaines conditions. Suivre les instructions de la *Procédure de test* appropriée afin d'éviter cette situation.

Recommandations concernant les tests


- T. Le rendement du test Aptima CT n'a pas été évalué chez les adolescents de moins de 15 ans.
- U. Ne pas utiliser ce kit après la date de péremption.



- V. Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de kits portant différents numéros de lot. Il est possible d'utiliser les témoins et les solutions provenant de kits Aptima portant différents numéros de lot.

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

- W. Des embouts de pipette munis de filtres hydrophobes doivent être utilisés. Au moins deux pipeteurs à répétition doivent être réservés à une utilisation pour ce test : un premier pour les étapes de capture de cible et d'amplification et un deuxième pour les étapes du test HPA. Deux micro-pipeteurs doivent être réservés à une utilisation pour ce test : un premier pour le transfert des échantillons et un deuxième pour la préparation des réactifs. Tous les pipeteurs doivent être régulièrement nettoyés conformément aux instructions indiquées sous *Procédure de test à l'aide des DTS Systems, Remarques concernant la procédure*.
- X. Si des pipeteurs à répétition sont utilisés pour ajouter des réactifs, ne pas toucher le tube avec l'embout de la pipette afin d'éviter toute contamination d'un tube à l'autre.
- Y. Un mélange adéquat est nécessaire pour obtenir des résultats de test précis. Pour de plus amples détails, consulter *Procédure de test à l'aide des DTS Systems, Remarques concernant la procédure*.
- Z. Réserver des bains-marie distincts aux étapes de capture de cible, d'amplification et du test HPA lors du test.
- AA. La reproductibilité du test a été établie à l'aide d'un milieu de transport de l'écouvillon enrichi de rRNA. La reproductibilité lors des tests d'échantillons sur écouvillon et urinaires contenant l'organisme cible n'a pas été déterminée.
- AB. Les cartes de protection doivent être jetées dans le récipient à déchets immédiatement après avoir été retirées des tubes réactionnels. Des cartes de protection neuves doivent toujours être utilisées; elles ne doivent jamais être réutilisées d'une étape à l'autre. Les cartes de protection doivent être fermement apposées sur le dessus de tous les tubes de réaction.
- AC. Certains réactifs de ce kit sont étiquetés avec les symboles de risque et de sécurité.

Remarque : pour obtenir des informations sur les mentions de danger, consultez la *Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches techniques de sécurité)* à l'adresse www.hologicsds.com.

Canada Hazard Information	
	<p>Buffer for Deactivation Fluid Sodium Hydroxide 1 – 5% AVERTISSEMENT H315 - Provoque une irritation cutanée H319 - Provoque une sévère irritation des yeux P264 - Se laver le visage, les mains et toute surface de peau exposée soigneusement après manipulation P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer P337 + P313 - Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin P302 + P352 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon P332 + P313 - En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin P362 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation</p>

	<p>Aptima Oil <i>Polydimethylsiloxane 95 - 100%</i> AVERTISSEMENT H315 - Provoque une irritation cutanée H319 - Provoque une sévère irritation des yeux P264 - Se laver le visage, les mains et toute surface de peau exposée soigneusement après manipulation P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer P337 + P313 - Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin P302 + P352 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon P332 + P313 - En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin P362 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation</p>
	<p>Selection Reagent <i>Boric Acid 1 – 5%</i> AVERTISSEMENT H315 - Provoque une irritation cutanée H319 - Provoque une sévère irritation des yeux P264 - Se laver le visage, les mains et toute surface de peau exposée soigneusement après manipulation P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer P337 + P313 - Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin P302 + P352 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon P332 + P313 - En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin P362 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation</p>

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

- A. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C (réfrigérés) :
- Réactif d'amplification CT Aptima
 - Réactif enzymatique Aptima
 - Réactif-sonde CT Aptima
 - Réactif de capture de cible B Aptima
 - Témoin positif CT/témoin négatif GC Aptima
 - Témoin positif GC/témoin négatif CT Aptima
- B. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C :
- Solution de reconstitution de l'amplification CT Aptima
 - Solution de reconstitution enzymatique Aptima
 - Solution de reconstitution de sonde CT Aptima
 - Réactif de sélection Aptima
- C. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 15 °C et 30 °C (température ambiante) :
- Réactif de capture de cible CT Aptima
 - Solution de lavage Aptima

Tampon Aptima pour solution de désactivation

Réactif huileux Aptima

- D. La solution de travail du réactif de capture de cible CT (working Target Capture Reagent, wTCR CT) est stable pendant 60 jours si elle est conservée entre 15 °C et 30 °C. Ne pas réfrigérer.
- E. Après reconstitution, le réactif enzymatique, le réactif d'amplification CT et le réactif-sonde CT sont stables pendant 60 jours lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C.
- F. Jeter tout réactif ou solution wTCR reconstitué et non utilisé au bout de 60 jours ou après la date de péremption du lot de référence si celle-ci survient avant.
- G. Les témoins sont stables jusqu'à la date indiquée sur les flacons.
- H. Les réactifs des flacons pour 100 tests chargés dans le Tigris DTS System sont stables pendant 96 heures une fois chargés.
- I. Les réactifs chargés dans le Panther System sont stables pendant 72 heures une fois chargés.
- J. Le réactif-sonde CT et le réactif-sonde reconstitué sont photosensibles. Conserver les réactifs à l'abri de la lumière.
- K. Lorsqu'ils parviennent à température ambiante, certains tubes de solution témoin peuvent être troubles ou contenir des précipités. La turbidité ou la précipitation associée à ces témoins n'a aucune influence sur leur rendement. Les témoins peuvent être utilisés peu importe qu'ils soient limpides ou troubles/précipités. Si l'on souhaite travailler avec des témoins limpides, on peut accélérer la solubilisation en les incubant aux valeurs maximales de la plage de température ambiante (15 °C à 30 °C).
- L. Ne pas congeler les réactifs.**

Collecte et conservation des échantillons

Le test CT Aptima est conçu pour détecter la présence de CT dans les échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et les échantillons urétraux masculins sur écouvillon collectés par un clinicien, les échantillons vaginaux sur écouvillon collectés par la patiente, les échantillons d'urine féminins et masculins et les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Le rendement du test sur des échantillons autres que ceux collectés à l'aide des kits de collecte d'échantillons suivants n'a pas été évalué :

- Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon
 - Kit de collecte d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins
 - Kit de collecte d'échantillons – écouvillon vaginal Aptima
 - Kit de prélèvement de spécimen sur écouvillon Aptima Multitest
 - Le kit de transfert d'échantillons Aptima (pour les échantillons gynécologiques collectés dans la solution PreservCyt)
- A. Instructions de prélèvement :
- Consulter la notice du test correspondant au kit de collecte d'échantillons utilisé pour les instructions concernant le prélèvement.

B. Transport et conservation des échantillons avant le test :

1. Échantillons sur écouvillon :

- a. Une fois collecté, transporter et conserver l'écouvillon dans le tube de transport d'échantillons sur écouvillon entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons doivent être testés avec le test CT Aptima dans les 60 jours qui suivent leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congeler les échantillons entre -20 °C et -70 °C pendant 12 mois maximum après la collecte (voir *Études de la stabilité des échantillons*).

2. Échantillons d'urine :

- a. Les échantillons d'urine qui sont encore dans le récipient de collecte principal doivent être transportés au laboratoire à une température de 2 °C à 30 °C. Transférer l'échantillon d'urine dans le tube de transport pour échantillons d'urine Aptima dans les 24 heures qui suivent sa collecte. Le conserver entre 2 °C et 30 °C et tester dans les 30 jours qui suivent la collecte.
- b. Une fois collectés, transporter les échantillons d'urine traités dans le tube de transport pour échantillons d'urine Aptima entre 2 °C et 30 °C et conserver le tube entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons d'urine traités doivent être testés à l'aide du test CT Aptima dans les 30 jours qui suivent leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congeler les échantillons entre -20 °C et -70 °C pendant 12 mois maximum après la collecte (voir *Études de la stabilité des échantillons*).

3. Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt :

- a. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt destinés aux tests CT doivent être utilisés, en ce qui concerne la cytologie et/ou transférés dans un tube de transfert d'échantillon Aptima, dans les 30 jours qui suivent leur collecte lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C (voir *Études de la stabilité des échantillons*).
- b. Si la procédure de retrait d'une aliquote ThinPrep est utilisée, se référer au *Manuel de l'utilisateur du processeur ThinPrep 2000 ou ThinPrep 3000 - Addendum (ThinPrep 2000 ou ThinPrep 3000 Processor Operator's Manual - Addendum)* pour obtenir des renseignements sur la procédure de retrait d'une aliquote. Transférer 1 mL de l'aliquote collectée dans un tube de transfert d'échantillon Aptima conformément à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima.
- c. En cas de test de l'échantillon après son traitement avec le système ThinPrep 2000, traiter l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt conformément au *Manuel de l'utilisateur du processeur ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* ou à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima. Transférer 1 mL du liquide restant dans le flacon de solution PreservCyt dans un tube de transfert d'échantillon Aptima conformément à la notice de test du kit de transfert d'échantillons Aptima.
- d. Une fois l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt transféré dans le tube de transfert d'échantillon Aptima, il doit être testé à l'aide du test CT Aptima dans les 30 jours s'il est conservé entre 2 °C et 8 °C ou 14 jours s'il est conservé entre 15 °C et 30 °C. Si une durée de conservation plus longue est nécessaire, congeler l'échantillon entre -20 °C et -70 °C jusqu'à 12 mois maximum après son transfert (voir *Études de la stabilité des échantillons*).

C. Conservation des échantillons après les tests :

1. Les échantillons qui ont été testés doivent être rangés dans un portoir en position verticale.
2. Les tubes de transport d'échantillons doivent être recouverts d'une nouvelle pellicule de film plastique ou d'aluminium propre.
3. Si certains des échantillons testés doivent être congelés ou expédiés, retirer les bouchons pénétrables et placer de nouveaux bouchons non pénétrables sur les tubes de transport d'échantillons. Si les échantillons doivent être expédiés dans un autre établissement pour y être testés, les températures recommandées doivent être maintenues. Avant de déboucher et de reboucher des échantillons qui ont déjà été testés, les tubes de transport d'échantillons doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour faire descendre tout le liquide au fond du tube. **Éviter les projections et la contamination croisée.**

Remarque : Les échantillons doivent être envoyés conformément aux réglementations nationales et internationales applicables relatives au transport.

DTS Systems

Les réactifs pour le test CT Aptima sont énumérés ci-dessous pour les DTS Systems. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériel fournis

Test Aptima pour Chlamydia trachomatis, 100 tests (2 boîtes) (référence 301088)

**Boîte réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 1 sur 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)**

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification CT Aptima <i>Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique Aptima <i>Transcriptase inverse et RNA polymérase déshydratées dans une solution tamponnée de HEPES contenant < 10 % de diluant.</i>	1 flacon
P	Réactif-sonde CT Aptima <i>Sondes de DNA chimioluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon
TCR-B	Réactif de capture de cible B Aptima <i>Acide nucléique non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 0,35 mL
PCT/NGC	Témoin positif CT/témoin négatif GC Aptima <i>Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL
PGC/NCT	Témoin positif GC/témoin négatif CT Aptima <i>Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 50 cellules de GC (250 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL

*Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

**La boîte réfrigérée comprend également les articles suivants (plateau de stockage)
(à conserver entre 2 °C et 30 °C dès la réception)**

Symbole	Composant	Quantité
AR	Solution de reconstitution de l'amplification CT Aptima <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 9,3 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique Aptima <i>Solution tamponnée de HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 3,3 mL
PR	Solution de reconstitution de sonde CT Aptima <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 12,4 mL

La boîte réfrigérée comprend également les articles suivants (plateau de stockage) (*suite*)
(à conserver entre 2 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
S	Réactif de sélection Aptima <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 x 31 mL
	Collets de reconstitution	3
	Cartes de protection	1 paquet

Boîte non réfrigérée pour test Aptima pour *Chlamydia trachomatis* (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
TCR	Réactif de capture de cible CT Aptima <i>Solution saline tamponnée contenant des oligomères de capture en phase solide.</i>	1 x 22 mL
W	Solution de lavage Aptima <i>Solution tamponnée de HEPES à 10 mM contenant < 2 % de détergent.</i>	1 x 402 mL
DF	Tampon Aptima pour solution de désactivation <i>Solution tamponnée de bicarbonate à 800 mM.</i>	1 x 402 mL
O	Réactif huileux Aptima <i>Huile de silicone.</i>	1 x 24,6 mL

Matériel requis mais vendu séparément

Remarque : Les références du matériel vendu par Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

	N° de référence
Luminomètre Leader HC+	104747-01
Système de capture de cible (Target Capture System, TCS) Hologic	104555
Incubateurs et vortexeurs :	—
2 vortexeurs multi-tubes	102160G
3 bains-marie circulateurs (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	104586
3 séparateurs pour bain-marie	104627
OU	
2 bains à chaleur sèche/vortexeurs SB100®	105524
Des bains SB100 supplémentaires peuvent être nécessaires si le volume de tests augmente.	
Kit Auto Detect Aptima	301048
2 pipeteurs à répétition Eppendorf	MME-02362
2 pipeteurs PR1000 RAININ de 1 000 µL	901715
Pipeteur Eppendorf 20 µL to 200 µL	105726
Embouts pour pipeteur à répétition, 2,5 mL	21-381-329 (Fisher)

	<u>N° de référence</u>
Embouts pour pipeteur à répétition, 5,0 mL	21-381-330 (Fisher)
Embouts pour pipeteur à répétition, 25,0 mL	21-381-115 (Fisher)
Embouts, style P1000 <i>embout de diamètre spécial vendu uniquement par Hologic</i>	105049
Embouts de pipette de 20 µL à 200 µL	705512 (Fisher)
Unités de dix tubes (Ten Tube Units, TTU)	TU0022
Cassette de dix embouts (Ten Tip Cassettes, TTC)	104578
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon vaginal Aptima	301162
Kit de prélèvement de spécimen sur écouvillon Aptima Multitest	PRD-03546
Kit de transfert d'échantillons Aptima	301154C
Solution étalon SysCheck	301078
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Récipients standard pour la collecte d'urine, sans conservateurs	—
Récipient en plastique à grand couvercle	—
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A

Matériel optionnel

	<u>N° de référence</u>
Kit de témoins Aptima	301110
Solutions Aptima <i>Solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima</i>	302002C
Rehausseur d'eau de Javel Hologic pour le nettoyage <i>pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils</i>	302101
Panel de références d'ITS	102325
Embouts, 1 000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4	900932
<i>Platine Aptima Combo 2 pour DTS Systems 800 Platine</i>	105200G
<i>Réservoir à réactif (quart de module de 40 mL)</i>	104765
<i>Réservoir à réactif divisé en deux (quart de module de 19 mL x 2)</i>	104763

Procédure de test à l'aide des DTS Systems

A. Préparation du matériel

1. Préparer un premier bain-marie à $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (pour la capture de cible et l'hybridation des amorces), un deuxième bain-marie à $42\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (pour l'amplification) et un troisième à $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (pour le test HPA). Si le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer) est utilisé, consulter la *fiche d'application du bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (fiche d'application SB100)*.
2. Avant d'entreprendre le test, nettoyer les plans de travail et les pipeteurs à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium diluée au contact des surfaces et des pipeteurs pendant au moins une minute, puis rincer à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrir la surface de la paillasse sur laquelle le test sera effectué à l'aide de protections de paillasse de laboratoire absorbantes avec envers plastifié.
3. Placer un nombre suffisant de cassettes de dix embouts dans le système de capture de cible (Target Capture System, TCS). Vérifier que la bouteille de solution de lavage du TCS est remplie de solution de lavage Aptima et que la rampe d'aspiration est branchée sur la pompe à vide. (Se référer au *Manuel de l'utilisateur du système de capture de cible [Target Capture System Operator's Manual]*.)

B. Reconstitution des réactifs

Remarque : La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre le transfert des échantillons.

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification CT, le réactif enzymatique CT et le réactif-sonde CT, mélanger la solution de reconstitution aux bouteilles de réactif lyophilisé. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laisser leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
 - a. Mettre la solution de reconstitution appropriée avec le réactif lyophilisé. Les étiquettes ont différents codes de couleur afin de pouvoir les associer correctement.
 - b. Ouvrir le flacon de réactif lyophilisé et insérer fermement l'extrémité du collet de reconstitution présentant une encoche dans l'ouverture du flacon (Figure 1, étape 1).
 - c. Ouvrir la bouteille de solution de reconstitution correspondante et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérer fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 1, étape 2).
 - e. Inverser lentement l'assemblage bouteille/flacon. Laisser la solution s'écouler depuis la bouteille dans le flacon (Figure 1, étape 3).
 - f. Faire tourner délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Éviter de faire de la mousse pendant cette manipulation (Figure 1, étape 4).
 - g. Attendre que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retourner à nouveau l'assemblage bouteille/flacon en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 1, étape 5). Laisser tout le liquide s'écouler dans la bouteille.
 - h. Retirer le collet de reconstitution de la bouteille (Figure 1, étape 6).
 - i. Reboucher la bouteille. Noter les initiales de l'utilisateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 1, étape 7).
 - j. Jeter le collet de reconstitution et le flacon (Figure 1, étape 8).

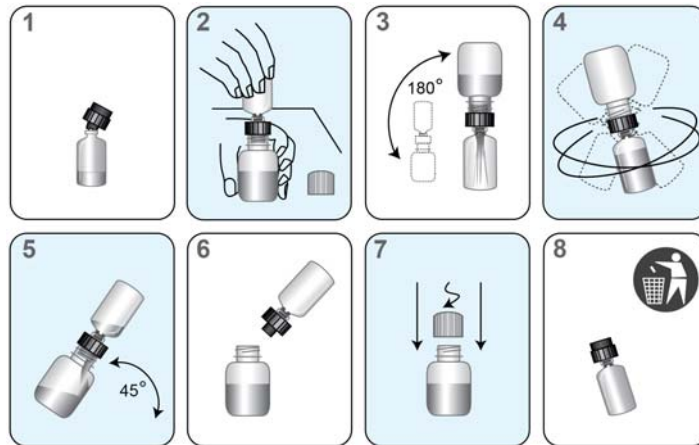


Figure 1. Processus de reconstitution pour les DTS Systems

2. Les réactifs enzymatiques, de sonde CT et d'amplification CT précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (15 °C à 30 °C) avant d'entreprendre un test. Si le réactif-sonde contient un précipité qui ne se dissout pas à température ambiante, chauffer la solution à 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cette étape de chauffage, le réactif-sonde peut être utilisé même s'il reste un précipité résiduel. Après la remise en suspension, mélanger doucement par retournement en veillant à ne pas former de mousse.

Remarque : Ces retournements devront être effectués chaque fois qu'un précipité se forme dans la solution, que ce soit par chauffage à 62 °C ou par réchauffement à température ambiante.

3. Préparation de la solution de travail du réactif de capture de cible CT (working Target Capture Reagent, wTCR CT)
 - a. Transférer 20 mL de TCR CT dans un récipient propre et sec de la taille appropriée et réservé à cet effet.
 - b. À l'aide d'un micro-pipeteur, ajouter 200 µL de TCR-B dans le TCR CT.
 - c. Faire tourner la solution pour bien la mélanger.
 - d. Mettre une étiquette sur ce récipient. Noter les initiales de l'utilisateur, la date de préparation et les deux numéros de lot.

Remarque : Pour un petit nombre de réactions (échantillons et témoins), utiliser la formule suivante pour calculer les volumes de TCR CT et TCR-B :

$$\text{Volume du TCR (mL)} = (\text{nombre de réactions} + 5 \text{ réactions supplémentaires}) \times 0,1 \text{ mL}$$

$$\text{Volume du TCR-B (mL)} = \text{Volume du TCR (mL)} / 100$$

C. Capture de cible

Le pipeteur à répétition utilisé pour la capture de cible et l'amplification doit être réservé à ces étapes uniquement. Voir *Avertissements et précautions* pour des renseignements supplémentaires.

Installation des portoirs

1. Laisser les témoins ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons.**

3. Confirmer visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
 - a. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
 - b. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon Multitest ou vaginal.
 - c. Volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
 - d. Absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Vérifier les tubes de transport avant de les perforer :
 - a. Si un tube de transport contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
 - b. Si le tube de transport présente un volume inférieur à celui généralement obtenu et que les instructions de collecte ont été respectées, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.
 - c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.
 - d. Si un échantillon d'urine contient un précipité, chauffer l'échantillon à 37 °C pendant 5 minutes maximum. Si le précipité ne se dissout pas, vérifier visuellement qu'il ne nuit pas à l'obtention de l'échantillon.

Remarque : Le non-respect des étapes 4a à c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.

5. Si des échantillons munis de bouchons standard (non pénétrables) sont testés, ils doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour que tout le liquide s'écoule au fond du tube avant de le déboucher. **Éviter les projections et la contamination croisée.**
6. Placer un nombre suffisant d'unités de dix tubes (Ten Tube Unit, TTU) pour les témoins et les échantillons dans le portoir pour unités de dix tubes (TTU).
7. Si l'on désire établir une liste de travail, en créer une à ce moment-là. Pour créer une liste de travail, consulter le *Manuel de l'utilisateur du logiciel de test Aptima (Aptima Assay Software Operator's Manual)*.
8. Bien mélanger la solution de wTCR CT. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 100 µL dans chaque tube de réaction.
9. **Le premier tube réactionnel doit contenir le contrôle négatif, et le second le contrôle positif.**
 - a. L'étiquette du témoin négatif du test CT Aptima est bleu-vert. Le texte de l'étiquette désigne le témoin négatif comme suit : « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT ». L'étiquette du témoin positif du test CT Aptima est rose. Le texte de l'étiquette désigne le témoin positif comme suit : « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC ».
 - b. Tenir le tube de témoin négatif (tube avec étiquette bleu-vert) d'une main ou le laisser dans un portoir. À l'aide d'un micro-pipeteur, perforer le bouchon en veillant à ne pas enfoncer l'embout au fond du tube. Ajouter 400 µL de témoin négatif (tube avec étiquette bleu-vert) au premier tube de réaction. En procédant de la même manière et à l'aide d'un nouvel embout de pipette, ajouter 400 µL de témoin positif (tube avec étiquette rose) au deuxième tube de réaction.

- Continuer la préparation du portoir en ajoutant 400 µL de chaque échantillon dans les tubes de réaction restants. Utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon et chaque témoin. Le volume d'échantillon ou de témoin pouvant être ajouté à un tube de réaction est de 400 µL ± 100 µL. Voir *Remarques concernant la procédure, Pipetage des témoins et des échantillons* pour des renseignements supplémentaires.

Capture de cible

L'utilisation du système de capture de cible (Target Capture System) Hologic est décrite dans le *Manuel de l'utilisateur du système de capture de cible (Target Capture System Operator's Manual)*. Si le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer) est utilisé, consulter la *fiche d'application du SB100*.

- Couvrir les TTU de cartes de protection et agiter délicatement le portoir manuellement. **Ne pas vortexer**. Incuber le portoir à 62 °C ± 1 °C dans un bain-marie pendant 30 ± 5 minutes.
- Retirer le portoir du bain-marie et sécher le fond des tubes sur un matériau absorbant.
- Vérifier que les cartes de protection sont fermement positionnées. Au besoin, les remplacer par de nouvelles cartes de protection et fermer hermétiquement les TTU.
- Vortexer le portoir pendant 60 secondes sur le vortexeur multi-tubes. Consulter *Remarques concernant la procédure, Agitation au vortex* pour des renseignements détaillés. Le portoir doit être vortexé dans les 2 minutes qui suivent son retrait du bain-marie.
- Sans retirer les cartes de protection, incuber le portoir à température ambiante pendant 30 ± 5 minutes.
- Placer le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 5 à 10 minutes.
- Amorcer la conduite de la pompe du poste de distribution en pompant la solution de lavage Aptima dans la rampe de distribution. Pomper une quantité suffisante de liquide dans le système afin qu'il ne reste aucune bulle d'air dans la tubulure et que les dix têtes distribuent un flux régulier de liquide.
- Mettre la pompe à vide en marche et débrancher la rampe d'aspiration du premier connecteur situé entre la rampe d'aspiration et le flacon piège. S'assurer que la jauge de vide satisfait les spécifications du test de fuite.¹ L'obtention de ce chiffre peut prendre 15 secondes. Rebrancher la rampe d'aspiration et vérifier que la jauge de dépression soit conforme à la spécification du niveau de dépression. Ne pas éteindre la pompe à vide avant que toutes les étapes de la capture de cible soient terminées et que la tubulure de la rampe d'aspiration soit sèche.
- Fixer fermement la rampe d'aspiration au premier jeu d'embouts. Aspirer tout le liquide en abaissant les embouts dans la première TTU jusqu'à ce qu'ils touchent brièvement le fond des tubes. Ne pas maintenir les embouts en contact avec le fond des tubes.
- Une fois l'aspiration terminée, éjecter les embouts dans leur TTC d'origine. Recommencer les étapes d'aspiration pour les TTU restantes en utilisant un embout dédié par échantillon.
- Placer la rampe de distribution sur chaque TTU et, à l'aide de la pompe du poste de distribution, verser 1,0 mL de solution de lavage Aptima dans chacun des tubes de la TTU.

¹ Consulter la Fiche des spécifications de dépression du système de capture située au verso du *Manuel de l'utilisateur du système de capture de cible (Target Capture System Operator's Manual)* ou communiquer avec le Service technique.

22. Couvrir les tubes d'une carte de protection et retirer le portoir de la base magnétique du TCS. Vortexer le portoir une fois sur le vortexeur multi-tubes. Consulter *Remarques concernant la procédure, Agitation au vortex* pour des renseignements détaillés.
23. Placer le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 5 à 10 minutes.
24. Aspirer tout le liquide comme aux Étapes 19 et 20.
25. Après l'aspiration finale, retirer le portoir de la base magnétique du TCS et inspecter visuellement les tubes pour vérifier que le liquide a été totalement aspiré et que tous les tubes contiennent un culot de particules magnétiques. S'il reste visiblement du liquide, remettre le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 2 minutes et refaire l'aspiration pour cette TTU en prenant les mêmes embouts que ceux utilisés précédemment avec chaque échantillon.

Remarque : Si un culot de particules magnétiques est visible une fois l'aspiration terminée, le tube peut être accepté. Si aucun culot n'est visible, l'échantillon doit être testé à nouveau. Si le même échantillon ne contient pas de culot de particules magnétiques à cette étape lors d'une série ultérieure, cela peut indiquer un problème lié à l'échantillon. Il est alors recommandé d'effectuer une nouvelle collecte de l'échantillon.

D. Amplification

Si le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer) est utilisé, consulter la *fiche d'application du SB100*.

1. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 75 µL du réactif d'amplification CT reconstitué dans chaque tube de réaction. Tous les mélanges réactionnels du portoir devraient maintenant avoir une teinte rouge.
2. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 200 µL de réactif huileux dans chaque tube de réaction.
3. Couvrir les tubes d'une carte de protection et les vortexer sur le vortexeur multi-tubes.
4. Incuber le portoir dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 10 ± 5 minutes.
5. Transférer le portoir dans un bain-marie à 42 °C ± 1 °C et incuber pendant 5 ± 2 minutes.
6. Une fois le portoir dans le bain-marie, retirer soigneusement la carte de protection et, à l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 25 µL du réactif enzymatique reconstitué dans chaque tube de réaction. Tous les mélanges réactionnels devraient maintenant avoir une teinte orange.
7. Couvrir immédiatement les tubes d'une nouvelle carte de protection, retirer le portoir du bain-marie et mélanger les tubes de réaction en agitant délicatement le portoir manuellement.
8. Incuber le portoir dans un bain-marie à 42 °C ± 1 °C pendant 60 ± 15 minutes.

E. Test de protection contre l'hybridation (Hybridization Protection Assay, HPA)

Si le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer) est utilisé, consulter la *fiche d'application du SB100*.

Le pipeteur à répétition utilisé pour l'hybridation et la sélection doit être réservé à ces étapes uniquement. Voir *Avertissements et précautions*.

1. Hybridation
 - a. Retirer le portoir du bain-marie et le transférer dans la zone de test HPA. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 100 µL du réactif-sonde CT reconstitué dans chaque tube de réaction. Tous les mélanges réactionnels devraient maintenant avoir une teinte jaune.
 - b. Couvrir les tubes d'une carte de protection et vortexer le portoir sur le vortexeur multi-tubes.

- c. Incuber le portoir dans un bain-marie à $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant 20 ± 5 minutes.
 - d. Retirer le portoir du bain-marie et laisser incuber à température ambiante pendant 5 ± 1 minutes.
2. Sélection
- a. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 250 µL de réactif de sélection dans chaque tube de réaction. Tous les mélanges réactionnels devraient maintenant avoir une teinte rouge.
 - b. Couvrir les tubes d'une carte de protection, vortexer pendant 10 secondes ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme, et incuber le portoir dans un bain-marie à $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant 10 ± 1 minutes.
 - c. Retirer le portoir du bain-marie.

3. Détection

La détection doit être effectuée entre 18 °C et 28 °C .

- a. Incuber le portoir entre 18 °C et 28 °C pendant 15 ± 3 minutes.

Remarque : Cette plage de température est indispensable pour le rendement du test.

- b. Pour utiliser le luminomètre Leader HC+ et le logiciel de test Aptima, consulter le *Manuel de l'utilisateur du luminomètre Leader HC+ (Leader HC+ Luminometer Operator's Manual)* ainsi que le *Manuel de l'utilisateur du logiciel de test Aptima (Aptima Assay Software Operator's Manual)*.
- c. Vérifier que les volumes d'Auto Detect 1 et d'Auto Detect 2 sont suffisants pour procéder aux tests.
- d. Préparer le luminomètre Leader HC+ en plaçant une TTU vide dans la position de cassette numéro 1 et effectuer le protocole de **Lavage**.
- e. Charger les TTU dans le luminomètre.
- f. Se connecter à l'ordinateur. Cliquer sur **New Run** (nouvelle série), choisir **Aptima CT Assay Protocol** (protocole de test CT Aptima) et entrer le nombre de tubes (témoins et échantillons). Cliquer sur **Next** (suivant) pour commencer la série.

Remarque : La série doit être complétée dans les 2 heures qui suivent la fin de l'incubation de l'étape de sélection.

- g. Préparer une solution de désactivation en mélangeant un volume équivalent d'hypochlorite de sodium dosé de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M) et de tampon Aptima pour solution de désactivation dans un récipient en plastique à grand couvercle. Mettre une étiquette et inscrire la date de péremption sur le récipient en plastique. La solution de désactivation est stable pendant 4 semaines à température ambiante. Jeter la solution de désactivation une fois les 4 semaines écoulées ou après avoir désactivé 100 échantillons traités (si cela survient avant).
- h. Après avoir retiré les TTU utilisées du luminomètre, les placer dans le récipient de solution de désactivation. Laisser les TTU dans le récipient pendant 15 minutes avant de les jeter. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates.

Remarques concernant la procédure

A. Témoins

Pour fonctionner correctement avec le logiciel de test Aptima, le témoin négatif pour CT, qui porte l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT », doit se trouver à la première position de la première TTU. Le témoin positif pour CT, qui porte l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC », doit se trouver à la deuxième position de la première TTU. S'ils sont placés dans la mauvaise position, la série échouera. Tout témoin supplémentaire doit être entré en tant qu'échantillon de patient et l'utilisateur doit veiller à ce qu'il soit acceptable. Le témoin positif pour GC sert de témoin négatif pour le test CT Aptima.

B. Pipetage des témoins et des échantillons

Le volume de témoin ou d'échantillon ajouté au tube de réaction doit être de $400 \mu\text{L} \pm 100 \mu\text{L}$. Il est recommandé d'inspecter visuellement le volume pipeté dans le tube de réaction pour veiller à ce que le volume transféré soit adéquat. Le volume de témoin ou d'échantillon doit être adéquat pour obtenir des résultats précis. Si un volume suffisant n'a pas été pipeté, pipeter à nouveau le wTCR CT ainsi que le témoin ou l'échantillon dans un nouveau tube de réaction.

C. Réactifs

La solution de reconstitution de sonde peut précipiter pendant la conservation. Si tel est le cas, chauffer la solution de reconstitution de sonde à $62 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 1 à 2 minutes. Après cette étape, la solution de reconstitution de sonde peut être utilisée, même s'il reste un précipité résiduel. Après la remise en suspension, mélanger délicatement le flacon par retournement en veillant à ne pas former de mousse.

D. Température

1. Les étapes de capture de cible, d'amplification, d'hybridation et de sélection dépendent de la température. Il est donc impératif que les bains-marie soient maintenus dans des plages de température précises.
2. La température ambiante est définie comme se situant entre $15 \text{ }^\circ\text{C}$ et $30 \text{ }^\circ\text{C}$.
3. Les étapes de détection du test doivent être effectuées entre $18 \text{ }^\circ\text{C}$ et $28 \text{ }^\circ\text{C}$.

E. Durée

Les réactions de capture de cible, d'amplification, d'hybridation et de sélection sont toutes fonction du temps écoulé. Respecter les durées indiquées dans la *Procédure de test à l'aide des DTS Systems*.

F. Agitation au vortex

Une agitation au vortex adéquate est importante pour assurer le bon fonctionnement du test CT Aptima. Si l'agitation au vortex est effectuée de manière adéquate, la suspension tourne à une vitesse capable de faire monter la solution dans la moitié supérieure du tube. Cette manipulation (agitation au vortex) est maintenue pendant une durée précise. Pour vortexer des réactions, régler la vitesse du vortexeur multi-tubes sur le réglage le plus bas, fixer solidement le portoir en place et mettre le vortexeur en marche. Augmenter lentement la vitesse jusqu'à ce que le liquide atteigne la moitié supérieure du tube. Vortexer pendant 10 secondes, la durée recommandée, ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme. Ensuite, tourner la vitesse sur le réglage le plus bas avant d'éteindre le vortexeur multi-tubes et de retirer le portoir. Les mélanges réactionnels ne doivent jamais toucher les cartes de protection.

G. Bains-marie

1. Le niveau d'eau des bains-marie doit avoir une profondeur de 3,8 à 5 cm (1,5 à 2,0 po), mesurée depuis le plateau de support métallique (fond du bain-marie) jusqu'à la surface de l'eau. Cette précaution permettra d'assurer un transfert de chaleur adéquat.
2. Pour éviter toute contamination croisée, les bains-marie doivent être réservés à une étape précise du test.

H. Décontamination

1. Surfaces et pipeteurs

Les surfaces des paillasses de laboratoire et les pipeteurs doivent être décontaminés régulièrement à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincer à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Les solutions à base de chlore peuvent piquer le métal et le matériel. Rincer soigneusement le matériel à l'eau pour éviter toute piqûre de corrosion.

2. Rampe d'aspiration du TCS

- a. Placer une nouvelle TTC dans le portoir de TTC. Mettre la pompe à vide en marche. Fixer la rampe d'aspiration aux embouts de la TTC. Aspirer toute la solution de lavage restant dans la cuve d'amorçage du poste de distribution de solution de lavage. (Placer la rampe de distribution de façon à ce qu'elle ne gêne pas.)
- b. Verser au moins 100 mL de solution d'hypochlorite de sodium dosée de 0,5 % à 0,7 % (0,07 M à 0,1 M) ou, si vous le préférez, dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M) dans la cuve d'amorçage. Aspirer toute la solution au moyen de la rampe d'aspiration.
- c. Verser au moins 100 mL d'eau désionisée dans la cuve d'amorçage. Aspirer toute l'eau au moyen de la rampe d'aspiration.
- d. Éjecter les embouts dans leur TTC d'origine.
- e. Laisser fonctionner la pompe d'aspiration jusqu'à ce que la tubulure de la rampe soit sèche pour éviter tout refoulement.
- f. Décontaminer les surfaces de la rampe d'aspiration de la façon décrite sous *Appareil TCS*.

3. Récipient à déchets du TCS

Retirer le flacon à déchets du système de capture de cible (Target Capture System) une fois par semaine ou lorsqu'il est rempli à 25 %.

- a. Éteindre la pompe à vide et laisser sa pression s'équilibrer.
- b. Débrancher les raccords à déconnexion rapide entre le flacon à déchets et le flacon de trop-plein, ainsi que le flacon à déchets et la rampe d'aspiration.
- c. Retirer le flacon à déchets du boîtier de piège à vide.
- d. Retirer le bouchon et ajouter avec précaution 400 mL de solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M) dans le flacon (ou 1 L si un flacon à déchets de 10 L est utilisé).

Remarque : Cette manipulation peut être effectuée sous une hotte pour éviter de libérer des émanations dans le laboratoire.

- e. Reboucher le flacon à déchets et faire tourner délicatement le contenu jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.
- f. Laisser le flacon à déchets reposer pendant 15 minutes, puis jeter le contenu (déchets).

- g. Rincer le flacon à déchets à l'eau pour éliminer tout résidu éventuel.
 - h. Reboucher le flacon vide et le mettre dans le boîtier du piège à vide. Fixer le raccord à déconnexion rapide sur l'appareil TCS. Jeter avec précaution les deux gants.
4. Appareil TCS
- Essuyer les surfaces de l'appareil TCS, la rampe d'aspiration et la surface des embouts d'éjection du tampon de lavage avec des serviettes en papier humidifiées à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Faire suivre l'étape de javellisation par un rinçage à l'eau, puis sécher complètement les surfaces avec des serviettes en papier.
5. Portoirs
- Submerger les portoirs dans une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M) en veillant à ce qu'ils soient recouverts par la solution d'hypochlorite de sodium. Maintenir les portoirs immergés pendant 10 minutes. Toute exposition plus longue endommagerait les portoirs. Rincer soigneusement les portoirs à l'eau et les placer sur un tampon absorbant propre avant de les laisser sécher parfaitement à l'air libre. Pour prolonger la durée de vie des portoirs, les faire sécher debout, et non inversés.
- I. Contamination des tests
1. L'introduction de substances contaminantes peut survenir si le protocole de test n'est pas rigoureusement respecté.
 2. Les TTU doivent être décontaminées dans une solution de désactivation de la façon décrite sous *Détection*. Ne pas réutiliser les TTU.
 3. Effectuer une décontamination régulière du matériel et des surfaces de travail de la façon décrite sous *Remarques concernant la procédure, Décontamination*.
 4. Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.
- J. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour les DTS Systems
- Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et des procédures propres à chaque laboratoire.
- Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon :
1. Marquer les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
 2. Retirer l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifier l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonner la zone désignée d'un geste circulaire.
 3. Introduire immédiatement l'écouvillon dans un tube de transport.
 4. Casser délicatement la tige de l'écouvillon sur la rainure en évitant toute projection du contenu.
 5. Reboucher hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.

6. Refaire Étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.
7. Tester l'écouvillon à l'aide du test Aptima CT selon la *Procédure de test à l'aide des DTS Systems*.

Si les résultats sont positifs ou équivoques pour CT (voir *Interprétation des tests – CQ/ Résultats patients*), la surface peut être contaminée et doit alors être décontaminée à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium selon les recommandations indiquées sous *Procédure de test à l'aide des DTS Systems, Préparation du matériel*.

Remarque : *Si l'on soupçonne le bain-marie d'être contaminé, il est possible de le tester à l'aide de la procédure de test d'échantillons d'urine et en ajoutant 2,0 mL d'eau dans un tube de transport d'échantillons d'urine.*

K. Dépannage

1. Des valeurs de témoin positif faibles peuvent être dues à des températures incorrectes lors des différentes étapes du test ou à un temps de sélection ayant dépassé la durée recommandée lors de l'étape de sélection.
2. Des bruits de fond élevés peuvent survenir si le temps de sélection de l'étape de sélection est écourté, la sélection de température est incorrecte ou en cas de mélange insuffisant après l'ajout du réactif de sélection.
3. Si le témoin positif Aptima pour GC, qui porte l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT », est positif ou équivoque pour CT, consulter *Remarques concernant la procédure, Contamination des tests* pour de plus amples renseignements.

Tigris DTS System

Les réactifs du test CT Aptima sont énumérés ci-dessous pour le Tigris DTS System. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériel fournis

Kit de test Aptima pour Chlamydia trachomatis, 100 tests (2 boîtes et un kit de témoins)
(N° de réf. 303091)

Boîte réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 1 sur 2)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification CT Aptima <i>Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique Aptima <i>Transcriptase inverse et RNA polymérase déshydratées dans une solution tamponnée de HEPES contenant < 10 % de diluant.</i>	1 flacon
P	Réactif-sonde CT Aptima <i>Sondes de DNA chimioluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon
TCR-B	Réactif de capture de cible B Aptima <i>Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 0,30 mL

Boîte non réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	Solution de reconstitution de l'amplification CT Aptima <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 11,9 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique Aptima <i>Solution tamponnée de HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 6,3 mL
PR	Solution de reconstitution de sonde CT Aptima <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 15,2 mL
S	Réactif de sélection Aptima <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 x 43,0 mL
TCR	Réactif de capture de cible CT Aptima <i>Solution saline tamponnée contenant des oligomères de capture en phase solide.</i>	1 x 26,0 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des code-barres de lot de référence	1 fiche

Kit de témoins Aptima
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCT/ NGC	Témoin positif CT/témoin négatif GC Aptima <i>Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL
PGC/ NCT	Témoin positif GC/témoin négatif CT Aptima <i>Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 50 cellules de GC (250 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL

*Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Matériel requis mais vendu séparément

Remarque : Les références du matériel vendu par Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

	<u>N° de référence</u>
Tigris DTS System	105118
Kit de liquides pour tests Aptima <i>(Solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima)</i>	302382
Kit Auto Detect Aptima	301048
Kit de conservateur de liquide système Aptima	302380
Embouts, 1 000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Kit pour séries Tigris DTS System contenant	301191
<i>Unités multi-tubes (Multi-tube Units, MTU)</i>	<i>104772-02</i>
<i>Kit de sacs pour MTU/embouts usagés</i>	<i>900907</i>
<i>Défecteur de déchets pour MTU</i>	<i>900931</i>
<i>Couvre-déchets pour MTU</i>	<i>105523</i>
Kit de transfert d'échantillons Aptima <i>à utiliser avec les échantillons dans la solution PreservCyt</i>	301154C
Kit de prélèvement de spécimen sur écouvillon vaginal Aptima	301162
Kit de prélèvement de spécimen sur écouvillon multitest Aptima	PRD-03546
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575

	<u>N° de référence</u>
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Eau pour le Tigris DTS System <i>Consulter le Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) pour connaître les spécifications.</i>	—
Gants jetables	—
Solution étalon SysCheck	301078
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 100 tests <i>Solutions de reconstitution du réactif d'amplification, du réactif enzymatique et du réactif-sonde CL0041 (100 bouchons) Réactif TCR et réactif de sélection 501604 (100 bouchons)</i>	—

Matériel optionnel

	<u>N° de référence</u>
Kit de témoins Aptima	301110
Rehausseur d'eau de Javel Hologic pour le nettoyage <i>pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils</i>	302101

Procédure de test pour le Tigris DTS System

Remarque : Consulter le Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) pour de plus amples renseignements sur la procédure avec ce système.

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyer les plans de travail sur lesquels les réactifs et les échantillons seront préparés. Essuyer les plans de travail à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincer à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrir la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés à l'aide de protections de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.

B. Reconstitution des réactifs/préparation d'un nouveau kit

Remarque : La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le Tigris DTS System.

1. Pour reconstituer le réactif d'amplification CT, le réactif enzymatique et le réactif sonde CT, mélanger les flacons de réactif lyophilisé avec la solution de reconstitution. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
 - a. Faire correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifier que la solution de reconstitution et le réactif lyophilisé ont des étiquettes de couleur correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
 - b. Vérifier les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs sont associés correctement.
 - c. Ouvrir le réactif lyophilisé et insérer fermement l'extrémité du collet de reconstitution présentant une encoche dans l'ouverture du flacon (Figure 2, étape 1).
 - d. Ouvrir la bouteille de solution de reconstitution correspondante et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - e. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérer fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 2, étape 2).
 - f. Retourner délicatement l'assemblage flacon/bouteille. Laisser la solution s'écouler depuis la bouteille dans le flacon en verre (Figure 2, étape 3).
 - g. Faire tourner délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Faire tourner le flacon en évitant de faire de la mousse (Figure 2, étape 4).
 - h. Attendre que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retourner à nouveau l'assemblage flacon/bouteille en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 2, étape 5). Laisser tout le liquide s'écouler dans la bouteille en plastique.
 - i. Retirer le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, étape 6).
 - j. Reboucher la bouteille. Noter les initiales de l'utilisateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 2, étape 7).
 - k. Jeter le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, étape 8).

Avertissement : Éviter de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse nuit au fonctionnement du détecteur de niveau du Tigris DTS System.

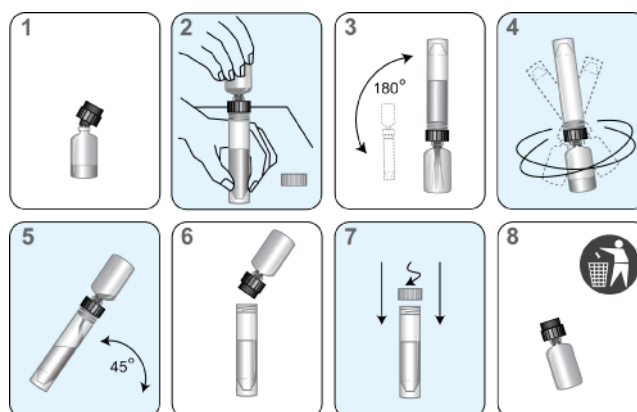


Figure 2. Procédure de reconstitution pour le Tigris DTS System

2. Préparer la solution de travail TCR CT (wTCR CT).
 - a. Associer les flacons de TCR CT et de TCR-B appropriés.
 - b. Vérifier les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs appropriés du kit correspondent.
 - c. Ouvrir le flacon de TCR CT et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Ouvrir le flacon de TCR-B et verser tout son contenu dans le flacon de TCR CT. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
 - e. Reboucher le flacon de TCR CT et faire tourner délicatement la solution pour mélanger le contenu. Éviter de faire de la mousse pendant cette étape.
 - f. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jeter le flacon de TCR-B et son bouchon.
3. Préparation du réactif de sélection
 - a. Vérifier le numéro de lot de la bouteille de réactif pour s'assurer qu'il correspond au numéro figurant sur la fiche de code-barres du lot de référence.
 - b. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

Remarque : Bien mélanger tous les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.

C. Préparation des réactifs préalablement reconstitués

1. Le réactif d'amplification CT, le réactif enzymatique et le réactif-sonde CT préalablement reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant d'entreprendre le test.
2. Si le réactif-sonde CT reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffer le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cette étape de chauffage, le réactif-sonde CT peut être utilisé même s'il reste un précipité résiduel. Mélanger le réactif-sonde CT par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger dans le système.
3. Bien mélanger chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.

4. Ne pas ajouter davantage de réactif dans les flacons de réactif. Le Tigris DTS System détecte et rejette les flacons dans lesquels plus de réactif a été ajouté.

D. Manipulation des échantillons

1. Laisser les témoins ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
3. Confirmer visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
 - a. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
 - b. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon multitest ou vaginal.
 - c. Volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
 - d. Absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Inspecter les tubes d'échantillon avant de les charger dans le portoir :
 - a. Si un tube d'échantillon contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
 - b. Si le tube d'échantillon présente un volume inférieur à celui généralement obtenu et que les instructions de collecte ont été respectées, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il n'y a pas de liquide dans le bouchon.
 - c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.
 - d. Si un échantillon d'urine contient un précipité, chauffer l'échantillon à 37 °C pendant jusqu'à 5 minutes. Si le précipité ne se dissout pas, vérifier visuellement qu'il ne nuit pas à l'obtention de l'échantillon.

Remarque : Le non-respect des étapes 4a à c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.

Remarque : Il est possible de tester jusqu'à 3 aliquotes distinctes provenant de chaque tube d'échantillon. Les tentatives de pipeter plus de 3 aliquotes du tube d'échantillon peuvent entraîner des erreurs d'insuffisance de volume.

E. Préparation du système

Configurer le système et la liste de travail selon les instructions du *Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual)* et de *Remarques concernant la procédure*.

Remarques concernant la procédure

A. Témoins

1. Pour travailler correctement avec le logiciel de test Aptima pour le Tigris DTS System, des témoins avant et de fin sont nécessaires. Le témoin positif GC / témoin négatif CT doit être placé dans la première position et l'avant-dernière position d'une liste de travail. Le témoin porte une étiquette bleu-vert. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT ». Le témoin positif CT / témoin négatif GC doit être placé dans la deuxième position et la dernière position d'une liste de travail. L'étiquette de ce témoin est rose. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC ».
2. Chaque tube de témoin Aptima est prévu pour un seul test. Les tentatives de pipeter plus d'une fois à partir du tube peuvent entraîner des erreurs d'insuffisance de volume.

B. Température

La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.

C. Poudre sur les gants

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

D. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour le Tigris DTS System

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et des procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon :

1. Marquer les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirer l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifier l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonner la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Introduire immédiatement l'écouvillon dans un tube de transport.
4. Casser délicatement la tige de l'écouvillon sur la rainure en évitant toute projection du contenu.
5. Reboucher hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Refaire les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

Si les résultats sont positifs ou équivoques pour CT, se référer à *Interprétation des tests – CQ/Résultats patients*. Pour des renseignements supplémentaires au sujet du contrôle de la contamination spécifiques au Tigris DTS System, consulter le *Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual)*.

Panther System

Les réactifs du test CT Aptima sont énumérés ci-dessous pour le Panther System. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériel fournis

Kit de test Aptima pour Chlamydia trachomatis, 100 tests (2 boîtes et 1 kit de témoins)
(N° de réf. 302925)

Boîte réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 1 sur 2)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification CT Aptima <i>Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique CT Aptima <i>Transcriptase inverse et RNA polymérase déshydratées dans une solution tamponnée de HEPES contenant < 10 % de diluant.</i>	1 flacon
P	Réactif-sonde CT Aptima <i>Sondes de DNA chimioluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon
TCR-B	Réactif de capture de cible B CT Aptima <i>Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 0,30 mL

Boîte non réfrigérée pour test Aptima pour Chlamydia trachomatis (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	Solution de reconstitution de l'amplification CT Aptima <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 11,9 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique Aptima <i>Solution tamponnée de HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 6,3 mL
PR	Solution de reconstitution de sonde CT Aptima <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 15,2 mL
S	Réactif de sélection CT Aptima <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 x 43,0 mL
TCR	Réactif de capture de cible CT Aptima <i>Solution saline tamponnée contenant des oligomères de capture en phase solide.</i>	1 x 26,0 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des code-barres de lot de référence	1 fiche

Kit de témoins Aptima
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCT/ NGC	Témoin positif CT/témoin négatif GC Aptima <i>Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL
PGC/ NCT	Témoin positif GC/témoin négatif CT Aptima <i>Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 50 cellules de GC (250 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL

*Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Matériel requis mais vendu séparément

Remarque : Les références du matériel vendu par Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

	<u>N° de référence</u>
Panther System	303095
Kit de liquides pour tests Aptima <i>(Solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima)</i>	303014 (1000 tests)
Kit Auto Detect Aptima	303013 (1000 tests)
Unités multi-tubes (Multi-tube units, MTU)	104772-02
Kit de sacs pour déchets Panther	902731
Couvre-déchets Panther	504405
Ou kit pour séries Panther <i>contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvre-déchets, des liquides pour tests et les solutions Auto Detect</i>	303096 (5000 tests)
Embouts, 1 000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Kit de transfert d'échantillons Aptima <i>à utiliser avec les échantillons dans la solution PreservCyt</i>	301154C
Kit de prélèvement de spécimen sur écouvillon vaginal Aptima	301162
Kit de prélèvement de spécimen sur écouvillon multitest Aptima	PRD-03546
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575

	<u>N° de référence</u>
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Gants jetables	—
Solution étalon SysCheck	301078
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 100 tests	—
<i>Solutions de reconstitution du réactif d'amplification, du réactif enzymatique et du réactif-sonde</i>	<i>CL0041 (100 bouchons)</i>
<i>Réactif TCR et réactif de sélection</i>	<i>501604 (100 bouchons)</i>

Matériel optionnel

	<u>N° de référence</u>
Kit de témoins Aptima	301110
Rehausseur d'eau de Javel Hologic pour le nettoyage <i>pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils</i>	302101

Procédure de test pour le Panther System

Remarque : Consulter le Manuel de l'utilisateur du Panther System (Panther System Operator's Manual) pour de plus amples renseignements sur la procédure du Panther System.

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyer les plans de travail sur lesquels les réactifs et les échantillons seront préparés. Essuyer les plans de travail à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincer à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrir la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés à l'aide de protections de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.

B. Reconstitution des réactifs/préparation d'un nouveau kit

Remarque : La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le Panther System.

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification CT, le réactif enzymatique CT et le réactif-sonde CT, ajouter la solution de reconstitution aux flacons de réactif lyophilisé. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laisser leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
 - a. Faire correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifier que la solution de reconstitution et le réactif ont des étiquettes de couleur correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
 - b. Vérifier les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs sont associés correctement.

- c. Ouvrir le flacon de réactif lyophilisé et insérer fermement l'extrémité du collet de reconstitution présentant une encoche dans l'ouverture du flacon (Figure 3, étape 1).
- d. Ouvrir la bouteille de solution de reconstitution correspondante et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
- e. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérer fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 3, étape 2).
- f. Retourner délicatement l'assemblage flacon/bouteille. Laisser la solution s'écouler depuis la bouteille dans le flacon en verre (Figure 3, étape 3).
- g. Faire tourner délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Évitez de faire de la mousse dans le flacon pendant cette manipulation (Figure 3, étape 4).
- h. Attendre que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retourner à nouveau l'assemblage flacon/bouteille en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 3, étape 5). Laisser tout le liquide s'écouler dans la bouteille en plastique.
- i. Retirer le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 3, étape 6).
- j. Reboucher le flacon en plastique. Noter les initiales de l'utilisateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 3, étape 7).
- k. Jeter le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 3, étape 8).

Avertissement : Éviter de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse nuit au fonctionnement du détecteur de niveau du Panther System.

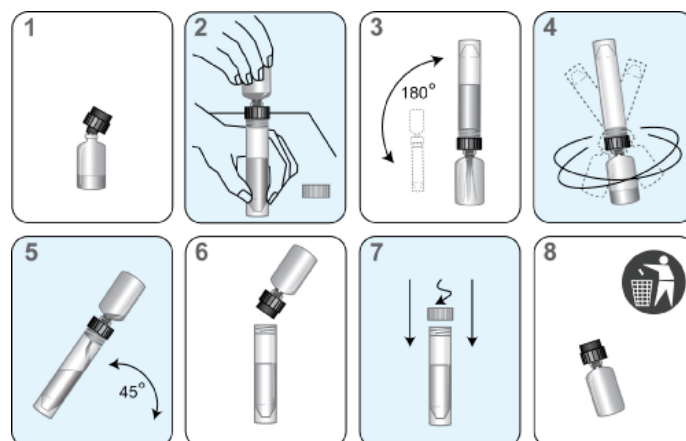


Figure 3. Procédure de reconstitution du Panther System

2. Préparer la solution de travail de réactif de capture de cible CT (working Target Capture Reagent, wTCR CT)
 - a. Associer les flacons de TCR CT et de TCR-B appropriés.
 - b. Vérifier les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs appropriés du kit correspondent.
 - c. Ouvrir le flacon de TCR CT et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Ouvrir le flacon de TCR-B et verser tout son contenu dans le flacon de TCR CT. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
 - e. Reboucher le flacon de TCR CT et faire tourner délicatement la solution pour mélanger le contenu. Éviter de faire de la mousse pendant cette étape.

- f. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jeter le flacon de TCR-B et son bouchon.
3. Préparation du réactif de sélection
 - a. Vérifier le numéro de lot de la bouteille de réactif pour s'assurer qu'il correspond au numéro figurant sur la fiche de code-barres du lot de référence.
 - b. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

Remarque : Bien mélanger tous les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.

C. Préparation des réactifs préalablement reconstitués

1. Le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde préalablement reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
2. Si le réactif-sonde CT reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffer le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cette étape de chauffage, le réactif-sonde CT peut être utilisé même s'il reste un précipité résiduel. Mélanger le réactif-sonde CT par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger dans le système.
3. Bien mélanger chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
4. Ne pas ajouter davantage de réactif dans les flacons de réactif. Le Panther System détecte et rejette les flacons dans lesquels plus de réactif a été ajouté.

D. Manipulation des échantillons

1. Laisser les témoins ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
3. Confirmer visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
 - a. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
 - b. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon multitest ou vaginal.
 - c. Volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
 - d. Absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Inspecter les tubes d'échantillon avant de les charger dans le portoir :
 - a. Si un tube de transport contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
 - b. Si le tube de transport présente un volume inférieur à celui généralement obtenu et que les instructions de collecte ont été respectées, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.
 - c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.

- d. Si un échantillon d'urine contient un précipité, chauffer l'échantillon à 37 °C pendant 5 minutes maximum. Si le précipité ne se dissout pas, vérifier visuellement qu'il ne nuit pas à l'obtention de l'échantillon.

Remarque : Le non-respect des étapes 4a à c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.

Remarque : Il est possible de tester jusqu'à 3 aliquotes distinctes provenant de chaque tube d'échantillon. Les tentatives de pipetage de plus de 3 aliquotes d'un tube d'échantillon peuvent entraîner des erreurs de traitement.

E. Préparation du système

1. Configurer le système selon les instructions du *Manuel de l'utilisateur du Panther System (Panther System Operator's Manual)* et les *Remarques concernant la procédure*. Veiller à ce que des portoirs à réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée soient utilisés.
2. Charger les échantillons.

Remarques concernant la procédure

A. Témoins

1. Une paire de témoins doit être utilisée pour permettre au logiciel de test Aptima pour le Panther System de fonctionner correctement. Sur le Panther System, les tubes de témoin positif CT / témoin négatif GC et de témoin positif GC / témoin négatif CT peuvent être placés à n'importe quelle position sur le portoir ou dans n'importe quelle colonne du compartiment à échantillons. Le pipetage des échantillons des patients débutera lorsqu'une des deux conditions suivantes aura été remplie :
 - a. Une paire de témoins est en cours de traitement par le système.
 - b. Des résultats valides ont été enregistrés sur le système pour les témoins.
2. Dès que le pipetage des tubes des témoins a été réalisé et que ces derniers sont en cours de traitement pour un kit de réactifs défini, l'analyse des échantillons des patients peut se poursuivre pendant 24 heures avec ce même kit **sauf si** :
 - a. Les témoins sont invalides.
 - b. Le kit de réactifs du test associé est retiré du système.
 - c. La durée de stabilité du kit de réactifs associé aux témoins a été dépassée.
3. Chaque tube de témoin Aptima est prévu pour un seul test. Les tentatives de pipetage répétées (plus d'une fois) à partir d'un même tube peuvent entraîner des erreurs de traitement.

B. Température

La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.

C. Poudre sur les gants

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

D. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour le Panther System

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement

de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et des procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon :

1. Marquer les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirer l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifier l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonner la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Insérer immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport.
4. Casser délicatement la tige de l'écouvillon sur la rainure en évitant toute projection du contenu.
5. Reboucher hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Refaire les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

Si les résultats sont positifs ou équivoques pour GC, se référer à *Interprétation des tests – CQ/Résultats patients*. Pour des renseignements supplémentaires au sujet du contrôle de la contamination spécifiques au Panther System, communiquer avec le Service technique de Hologic.

Interprétation des tests – CQ/Résultats patients

A. Interprétation des tests

Les résultats des tests sont interprétés automatiquement par le logiciel de test Aptima au moyen du protocole CT. Un résultat de test peut être négatif, équivoque, positif ou invalide tel que déterminé par le nombre total de RLU à l'étape de détection (voir ci-dessous). Un résultat de test peut être invalide si l'une des valeurs de RLU se situe en dehors des seuils normalement prévus. Si les premiers résultats de test sont équivoques ou invalides, le test doit être refait.

Interprétation des tests	Total de RLU (x 1 000)
Négatif	0* à < 50
Équivoque	50 à < 100
RLU faiblement positive ^{1,2,3}	100 à < 5 000
Positif ^{1,2}	5 000 à < 12 000
Invalide	0* ou > 12 000

* Un résultat de zéro (0 x 1 000) RLU sur le rapport de la série représente une valeur comprise entre zéro et 999 RLU. Les valeurs de RLU inférieures à 160 sur les DTS Systems, ou à 690 sur le Tigris DTS System ou sur le Panther System, seront signalées comme étant invalides.

¹ Conformément aux directives des CDC, « La réalisation de tests de routine supplémentaires doit être envisagée chez les personnes dont les tests de dépistage de CT ou de GC se sont révélés positifs lorsque les renseignements sur les facteurs de risque ou des relevés réalisés indiquent que la prévalence est faible, donnant lieu à une VPP plus basse (par ex., < 90 %). » Consulter les directives des CDC pour de plus amples renseignements sur les tests complémentaires et la prise en charge des patients après un test de dépistage positif (4).

² Se référer au Tableau 3 pour la répartition des résultats en valeurs de RLU. La valeur des RLU n'est pas représentative de la quantité d'organismes dans l'échantillon.

³ Dans la plage faiblement positive, les données indiquent que ces résultats positifs doivent être interprétés avec précaution, sachant qu'il est plus probable d'obtenir un résultat faussement positif que vraiment positif.

B. Résultats du contrôle de qualité et acceptabilité

Le témoin négatif Aptima pour CT, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT », et le témoin positif Aptima pour CT, portant l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC », servent de témoins pour les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection de ce test. Selon les recommandations ou les exigences en vigueur dans votre pays ou auprès des organismes d'accréditation, des témoins supplémentaires pour la lyse cellulaire et la stabilisation du RNA peuvent être requis. Le témoin négatif pour CT, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT », contient du rRNA de GC non infectieux. Si des témoins supplémentaires sont souhaités, ils peuvent être commandés sous forme de kit. Voir *Matériel optionnel*. La bonne préparation des échantillons se confirme visuellement par la présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon, par un volume final d'urine situé entre les lignes indicatrices noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine ou par l'absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima pour les échantillons de frottis en milieu liquide.

Les témoins positifs doivent produire les résultats de test suivants :

Témoin	Total de RLU (x 1 000)	Résultat de CT
Témoin positif, GC/ Témoin négatif, CT	0* et < 50	Négatif
Témoin positif, CT/ Témoin négatif, GC	≥ 100 et < 12 000	Positif

* Un résultat de zéro (0 x 1 000) RLU sur le rapport de la série représente une valeur comprise entre zéro et 999 RLU. Les valeurs de RLU inférieures à 160 sur les DTS Systems, ou à 690 sur le Tigris DTS System ou sur le Panther System, seront signalées comme étant invalides.

1. Le logiciel de test Aptima évalue automatiquement les témoins selon les critères ci-dessus et indique que la série a réussi (PASS) si les critères de témoin de la série sont satisfaits ou a échoué (FAIL) si les critères de témoin de la série ne sont pas satisfaits.
2. Si le Run Status (État de la série) indique FAIL (Échec), tous les résultats des tests d'une même série sont invalides et ne doivent pas être pris en compte.
3. Chaque laboratoire devra mettre en place des procédures de contrôle appropriées pour répondre aux exigences des règlements CLIA (paragraphe 493.1256).

Remarque : Voir *Dépannage*, ou appeler le Service technique de Hologic pour toute assistance avec des contrôles hors normes sur les DTS Systems.

4. L'un des paramètres du Tigris DTS System permet à chaque site de préciser une fréquence de « série encadrée de témoins » où des jeux de témoins supplémentaires peuvent être placés à des intervalles définis dans la liste de travail. Si ce paramètre est précisé, le Tigris DTS System exigera de placer un jeu de témoins après le nombre défini d'échantillons de la série encadrée de témoins. Le Tigris DTS System évalue automatiquement chacun des témoins de la liste de travail en fonction des critères ci-dessus et invalide tous les échantillons dans la ou les séries encadrées de témoins concernées si les critères de témoin ne sont pas satisfaits. Consulter le *Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual)* pour de plus amples renseignements.
5. Les témoins négatifs peuvent se révéler inefficaces pour surveiller la contamination aléatoire de transfert. Voir *Rendement analytique du Tigris DTS System* pour consulter les résultats d'une étude analytique sur la contamination de transfert avec une valeur cible élevée qui a été effectuée pour démontrer le contrôle de la contamination de transfert sur le Tigris DTS System. Voir *Rendement analytique du Panther System* pour consulter les résultats d'une étude analytique sur la contamination de transfert avec une valeur cible élevée qui a été effectuée pour démontrer le contrôle de la contamination de transfert sur le Panther System.

C. Témoin de la préparation des échantillons (facultatif)

Le témoin négatif Aptima pour CT, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT », et le témoin positif Aptima pour CT, portant l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC », servent de témoins aux étapes de capture de cible, d'amplification et de détection de ce test et doivent être inclus dans chaque série de test. Si on le souhaite, des témoins de la lyse cellulaire et de la stabilisation du RNA peuvent être testés conformément aux recommandations ou aux exigences des organismes d'accréditation concernés, ou encore selon les procédures particulières du laboratoire. Les échantillons positifs connus peuvent servir de témoins s'ils sont préparés et testés avec des échantillons inconnus. Les échantillons utilisés comme témoins de la préparation

doivent être conservés, manipulés et testés conformément à la notice de test. Les témoins de la préparation des échantillons doivent être interprétés de la même manière que celle recommandée pour les échantillons de patients. Voir *Interprétation des tests – CQ/Résultats patients, Résultats des tests de patients*.

D. Résultats des tests de patients

1. Si les témoins utilisés lors d'une série ne donnent pas les résultats attendus, les résultats des tests des échantillons des patients faisant partie de la même série ne doivent pas être validés.
2. Résultats des échantillons sur écouvillon, d'urine et de frottis en milieu liquide PreservCyt. Voir *Remarques* ci-dessous.
 - a. Résultats initiaux

CT Pos.*	Positif pour le rRNA de CT.
CT Nég.	Présumé négatif pour le rRNA de CT.
CT Équiv.	L'échantillon devra être testé à nouveau.
Invalide	L'échantillon devra être testé à nouveau.

b. Résultats après nouvelle analyse

CT Pos.*	Positif pour le rRNA de CT.
CT Nég.	Présumé négatif pour le rRNA de CT.
CT Équiv.	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.
Invalide	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.

*Les résultats des échantillons à valeur de RLU faiblement positive sont inclus dans cette catégorie. Voir *Interprétation des tests – CQ/Résultats patients* ci-dessus.

Remarques

- Le premier résultat valide et non équivoque pour chaque analyte est celui qui doit être validé.
- Il est conseillé de considérer attentivement les données de performance pour interpréter les résultats du test CT Aptima pour les individus asymptomatiques ou tout individu venant d'une population à faible prévalence d'infection.
- Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'une infection à CT étant donné que la qualité des résultats dépend de la collecte des échantillons, de l'absence d'inhibiteurs, et de l'obtention d'une quantité de rRNA suffisante pour être détectée. Les résultats des tests peuvent être influencés par une collecte inadéquate des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique, une confusion entre échantillons ou un taux de cible inférieur au seuil de détection du test.
- Le test d'un échantillon endocervical est recommandé pour les patientes chez qui l'examen clinique indique une infection à Chlamydia ou gonococcique. Si un échantillon pour frottis cervical et un échantillon endocervical sur écouvillon sont collectés, l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt doit être collecté avant l'échantillon endocervical sur écouvillon.

Limites

- A. L'utilisation de ce test est réservée au personnel ayant été formé à la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. Les effets de l'utilisation de tampons hygiéniques, de la douche vaginale et des variables de la collecte des échantillons n'ont pas été évalués pour la détection de CT.
- C. La présence de mucus dans les échantillons endocervicaux ne nuit pas à la détection de CT par le test CT Aptima. Toutefois, afin d'assurer que des cellules infectées par CT sont collectées, les cellules épithéliales cylindriques recouvrant la région endocervicale doivent être échantillonnées. Si l'excès de mucus n'est pas retiré, l'échantillonnage de ces cellules n'est pas assuré.
- D. L'échantillonnage des échantillons d'urine, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt n'est pas destiné à remplacer les examens cervicaux et les échantillons endocervicaux dans le diagnostic des infections urogénitales chez la femme. Les patientes peuvent souffrir d'une cervicite, d'une urétrite, d'une infection urinaire ou d'une infection vaginale dues à d'autres causes ou à des infections parallèles par d'autres agents.
- E. Le test CT Aptima n'est pas prévu pour l'évaluation d'abus sexuel présumé ou à d'autres fins médico-légales. Pour les patients chez qui des résultats faussement positifs peuvent avoir un effet psychosocial néfaste, les CDC recommandent d'effectuer un nouveau test avec une autre méthode (4).
- F. La fiabilité des résultats dépend de la qualité de la collecte des échantillons. Étant donné que le système de transport utilisé pour ce test ne permet pas l'évaluation microscopique de la qualité des échantillons, il est nécessaire que les cliniciens soient formés aux techniques de collecte d'échantillons appropriées. Consulter la notice du kit de collecte d'échantillons Aptima correspondant.
- G. L'échec ou la réussite d'un traitement ne peut être déterminé par le test CT Aptima étant donné que les acides nucléiques peuvent persister après un traitement antimicrobien appropriée.
- H. Les résultats du test CT Aptima doivent être interprétés en conjonction avec les autres données cliniques et de laboratoire dont dispose le clinicien.
- I. Un résultat négatif n'exclut pas une éventuelle infection étant donné que les résultats dépendent de la qualité de la collecte de l'échantillon. Les résultats des tests peuvent être influencés par une collecte inadéquate des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique, une confusion entre échantillons ou un taux de cible inférieur au seuil de détection du test.
- J. Le test CT Aptima fournit des résultats qualitatifs. Il n'est donc pas possible d'établir une corrélation entre l'intensité d'un signal de test positif et le nombre d'organismes dans un échantillon.
- K. Concernant les études cliniques des échantillons vaginaux, endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, et des échantillons d'urine, le rendement de la détection de CT est obtenu parmi des populations à prévalence d'infections élevée. Des résultats positifs dans des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant qu'il est plus probable d'obtenir un résultat faussement positif que vraiment positif.

- L. Concernant les études cliniques sur les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, le rendement du test CT Aptima dans la détection de CT a été obtenu essentiellement parmi des populations à faible prévalence d'infections. Néanmoins, des résultats positifs dans des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant qu'il est plus probable d'obtenir un résultat faussement positif que vraiment positif.
- M. Le rendement du kit de transfert d'échantillons Aptima n'a pas été évalué pour tester le même échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt avant et après le traitement du frottis avec le système ThinPrep.
- N. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt traités avec des instruments, autre que le processeur ThinPrep 2000, n'ont pas été évalués pour être utilisés avec les tests Aptima.
- O. Les échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal offrent une option de dépistage chez les femmes lorsqu'un examen pelvien n'est pas autrement indiqué.
- P. L'utilisation d'échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal est réservée aux centres de soins de santé où des conseils et du soutien sont offerts pour expliquer les procédures et les précautions d'emploi.
- Q. Le test CT Aptima n'a pas été validé pour être utilisé avec des échantillons collectés à domicile par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal.
- R. Le rendement du test Aptima CT n'a pas été évalué chez les adolescents de moins de 15 ans.
- S. Le rendement du Tigris DTS System n'a pas été déterminé à une altitude supérieure à 2 240 mètres. Des vérifications volumétriques ainsi que des études spécifiques au test supplémentaires seront effectuées avant le processus d'installation et d'acceptation ou dans le cadre de ce processus, pour les laboratoires situés à une altitude supérieure à 2 240 mètres.
- T. Le rendement du Panther System n'a pas été déterminé à une altitude supérieure à 2 000 mètres.
- U. Il ne semble pas y avoir de dégradation des acides nucléiques dans la solution PreservCyt. Si un échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt contient une faible quantité de matériel cellulaire de CT, il peut se produire une distribution irrégulière de ce matériel cellulaire. De même, lorsqu'on le compare à l'échantillonnage direct avec le milieu de transport d'échantillons Aptima, le volume additionnel de la solution PreservCyt donne une dilution plus importante du matériel échantillonné. Ces facteurs peuvent influencer la capacité à détecter une petite quantité d'organismes dans le matériel collecté. Si les résultats négatifs de l'échantillon ne correspondent pas à l'impression clinique, il pourrait être nécessaire d'utiliser un nouvel échantillon.
- V. Les clients doivent valider indépendamment un processus de transfert LIS.

Résultats des études cliniques

Le rendement du test CT Aptima a été établi dans le cadre de deux investigations cliniques multicentriques réalisées en Amérique du Nord. Deux études ont été effectuées lors de la première investigation clinique. Tout d'abord, l'étude des échantillons cliniques a établi la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test CT Aptima sur des échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, sur des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal et sur des échantillons d'urine masculins et féminins. La deuxième étude dans le cadre de la première investigation clinique visait à évaluer la précision du test CT Aptima lorsque celui-ci est réalisé conformément aux directives NCCLS (16). La seconde investigation clinique visait à établir la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test CT Aptima dans la solution PreservCyt (composant du système ThinPrep 2000). Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été également évalués pour leur précision en laboratoire avec le test CT Aptima.

Valeurs attendues pour les DTS Systems

Prévalence

La prévalence des infections à CT dans des populations de patients dépend des facteurs de risque tels que l'âge, le sexe, la présence de symptômes, le type de clinique et la méthode de test. Un résumé de la prévalence de CT par type d'échantillon, déterminée à l'aide du test CT Aptima, est présenté dans Tableaux 1a et 1b pour les deux investigations cliniques multi-centriques, par site clinique et dans l'ensemble.

Tableau 1a : Prévalence de *C. trachomatis* par site clinique et de manière globale d'après les résultats du test CT Aptima

Site	% (nbre positifs/nbre testés)											
	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	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	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	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	8,2	(4/49)	6,1	(3/49)	12,5	(6/48)	7,8	(4/51)
Tous	20,0	(264/1321)	18,8	(248/1322)	15,4	(224/1455)	13,1	(191/1458)	15,3	(219/1435)	16,2	(237/1461)

MS = Écouvillon urétral masculin; MU = Urine homme; FS = Écouvillon endocervical féminin; FU = Urine femme;
PVS = Écouvillon vaginal collecté par la patiente; CVS = Écouvillon vaginal collecté par un clinicien.

Tableau 1b : Prévalence de *C. trachomatis* par site clinique et de manière globale d'après les résultats du test CT Aptima sur des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Site	% (nbre positifs/nbre testés)	
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)
Tous	6,3	(104/1647)

Valeurs prédictives positives et négatives des taux de prévalence hypothétiques en Amérique du Nord

Les valeurs prédictives positives et négatives (VPP et VPN) estimées pour les différents taux de prévalence hypothétiques déterminées à l'aide du test CT Aptima sont indiqués au tableau 2. Ces calculs sont basés sur les taux de prévalence hypothétiques et sur la sensibilité et la spécificité globales calculées d'après l'état d'infection des patients dans trois investigations cliniques multicentriques. La sensibilité et la spécificité globales à CT étaient respectivement de 96,7 % et 96,8 % (Tableau 2). La VPP et la VPN réelles pour les échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et les échantillons urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, les échantillons collectés par la patiente à

l'aide d'un écouvillon vaginal et les échantillons d'urine masculins et féminins sont indiquées au Tableau 6 pour chaque site clinique et de manière globale. La VPP et la VPN réelles pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt sont indiquées au tableau 6a.

Tableau 2 : Valeurs prédictives positives et négatives pour des taux de prévalence hypothétiques

Taux de prévalence hypothétique (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	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

Distribution des RLU pour le test CT Aptima

La Figure 4 montre la distribution des RLU pour le test CT Aptima pour tous les types d'échantillons de l'étude clinique à l'exception des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Le Tableau 3 résume la distribution des RLU pour la totalité des résultats positifs et la totalité des résultats négatifs, de même que les résultats faussement positifs et les résultats faussement négatifs, concernant l'état d'infection des patients pour chaque type d'échantillons, à l'exception des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Parmi certains types d'échantillons, on note une tendance vers une proportion croissante de résultats vraiment positifs lorsque les valeurs de RLU augmentent.

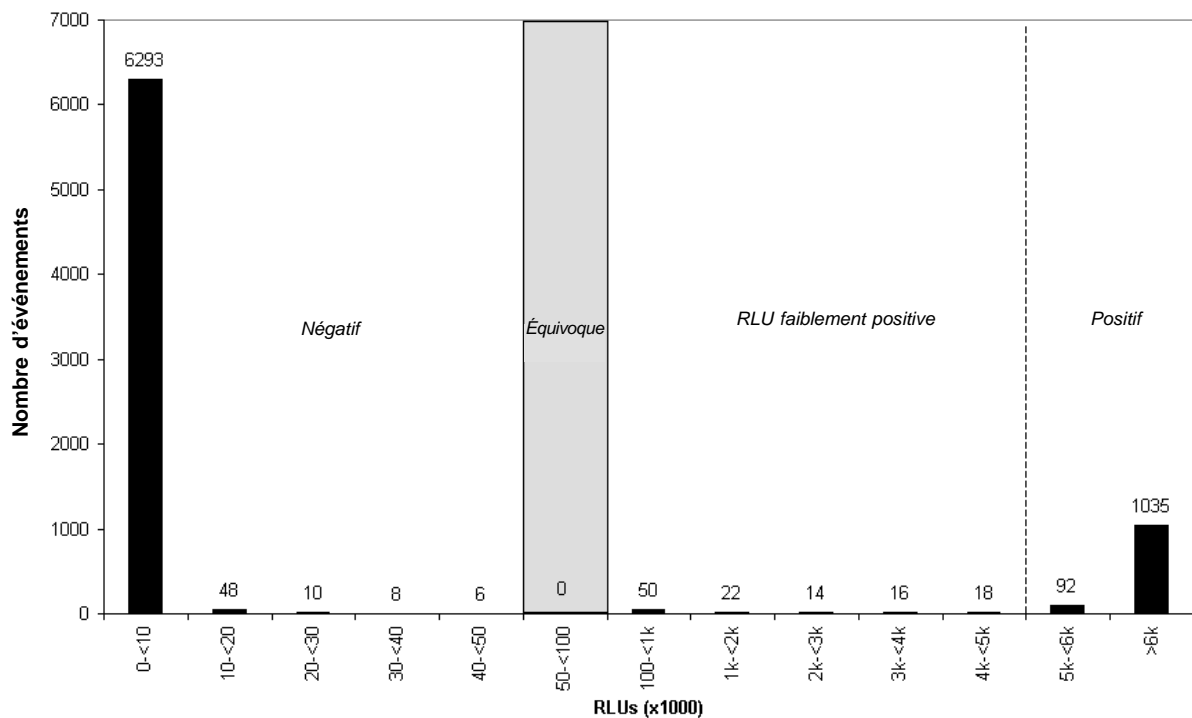


Figure 4. Fréquence de la distribution des RLU pour le test CT Aptima

Tableau 3 : Distribution des RLU pour le test CT Aptima

	RLU (x 1 000)												
	0 < 10	10 < 20	20 < 30	30 < 40	40 < 50	50 < 100	100 < 1 000	1 000 < 2 000	2 000 < 3 000	3 000 < 4 000	4 000 < 5 000	5 000 < 6 000	> 6 000
Total de résultats positifs						0	50	22	14	16	18	92	1 035
Total de résultats faussement positifs						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
Total de résultats négatifs	6 293	48	10	8	6	0							
Total de résultats faussement négatifs	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 = Écouvillon vaginal collecté par un clinicien; **PVS** = Écouvillon vaginal collecté par une patiente asymptomatique;
FS = Écouvillon endocervical féminin; **MS** = Écouvillon urétral masculin; **FU** = Urine femme; **MU** = Urine homme.
 La colonne grisée indique une zone équivoque.

Rendement du test avec les DTS Systems

Consulter *Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System* après le chapitre *Rendement analytique des DTS Systems* pour connaître le rendement clinique spécifique au Tigris DTS System.

Étude sur des échantillons cliniques – Échantillons endocervicaux sur écouvillon, échantillons urétraux masculins sur écouvillon, échantillons vaginaux sur écouvillon et échantillons d'urine

Des échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal et des échantillons d'urine masculins et féminins ont été collectés auprès de 2 787 sujets masculins et féminins symptomatiques ou asymptomatiques ayant consulté un gynécologue/obstétricien, une clinique de traitement des infections transmissibles sexuellement (ITS) ou un centre pour adolescents ou de planification familiale dans huit sites cliniques géographiquement distincts en Amérique du Nord. Les sujets ont été classés symptomatiques si des symptômes tels que des pertes, une dysurie ou des douleurs pelviennes ont été signalés par le sujet. Les sujets ont été classés asymptomatiques s'ils n'ont fait état d'aucun symptôme. Sur les 1 392 sujets asymptomatiques inscrits à l'étude, 2 avaient moins de 16 ans, 237 entre 16 et 20 ans, 423 entre 21 et 25 ans, et 730 avaient plus de 25 ans. Sur les 1 395 sujets symptomatiques participant à l'étude, 211 avaient entre 16 et 20 ans, 494 entre 21 et 25 ans, et 690 avaient plus de 25 ans.

Trois échantillons ont été collectés auprès de chacun des 1 322 sujets masculins admissibles. Cinq échantillons ont été collectés auprès de chacun des 1 465 sujets féminins admissibles. Chez les sujets masculins, deux écouvillons urétraux aléatoires ont été collectés, suivis d'un échantillon d'urine. Chez les sujets féminins, un échantillon d'urine a été collecté suivi par un échantillon collecté par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal, un échantillon collecté par un clinicien à l'aide d'un écouvillon vaginal, et deux échantillons endocervicaux aléatoires sur écouvillon. Les résultats du test CT Aptima et du test Aptima Combo 2 CT ont été obtenus pour les deux écouvillons vaginaux, un écouvillon endocervical, un écouvillon urétral et une aliquote d'urine masculine et féminine. Les écouvillons endocervicaux féminins et urétraux masculins restants ainsi qu'une aliquote d'urine masculine et féminine ont été testés à l'aide d'un autre TAAN commercial. Les échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon et les échantillons d'urine masculins et féminins testés à l'aide du test Aptima Combo 2 et de l'autre TAAN commercial ont été utilisés comme TAAN de référence pour déterminer l'état d'infection de chaque sujet. L'analyse des échantillons a été effectuée soit sur le site d'inscription des sujets, soit dans un site d'analyse externe.

Tous les calculs de rendement ont été basés sur le nombre total des résultats obtenus pour les échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine masculins et féminins du test CT Aptima comparés à un algorithme de l'état d'infection des patients pour chaque sexe. Dans l'algorithme, la désignation d'un sujet comme étant infecté ou non infecté par CT était basée sur les résultats des échantillons endocervicaux sur écouvillon ou d'urine du test Aptima Combo 2 commercial ainsi que de l'autre TAAN commercial. Les sujets étaient considérés infectés par CT si deux des quatre échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine étaient positifs selon le test Aptima Combo 2 et l'autre TAAN de référence (un échantillon testant positif dans chaque TAAN). Les sujets étaient considérés non infectés si moins de deux résultats de TAAN de référence étaient positifs.

Au total, 8 406 résultats de test CT Aptima ont été utilisés pour calculer la sensibilité et la spécificité. La sensibilité et la spécificité à CT par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées au Tableau 4. Le Tableau 6 indique la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test CT Aptima comparés à l'état d'infection des patients pour chaque site clinique et de manière globale. Les tableaux 7a-7d résument le nombre de résultats des sujets symptomatiques ou asymptomatiques désignés comme infectés ou non infectés par CT selon l'algorithme de l'état d'infection des patients.

Sur les 2 787 sujets inscrits, 13 avaient un état d'infection par CT inconnu. Les sujets ont été désignés comme ayant un état d'infection inconnu si des résultats incomplets empêchaient de déterminer de manière concluante leur état d'infection. Les résultats obtenus auprès de ces sujets n'ont pas été inclus dans les calculs de rendement. Sur les 8 452 résultats de test CT Aptima de l'étude clinique multicentrique, un faible pourcentage (8, 0,09 %) d'échantillons a donné un résultat de test initial invalide pour CT. Après répétition des tests, il ne restait aucun résultat équivoque ou invalide.

Tableau 4 : Sensibilité et spécificité du test CT Aptima par rapport à l'état d'infection des patients en fonction des symptômes et de manière globale

Échantillon	État des symptômes	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	
Homme	Écouvillon	Symptomatique	576	131	23 ^a	418	4	97,0 (92,6 - 99,2)	94,8 (92,3 - 96,7)
		Asymptomatique	745	90	20 ^b	634	1	98,9 (94,0 - 100)	96,9 (95,3 - 98,1)
		Tous	1321	221	43 ^c	1052	5	97,8 (94,9 - 99,3)	96,1 (94,7 - 97,1)
	Urine	Symptomatique	576	127	14 ^d	427	8	94,1 (88,7 - 97,4)	96,8 (94,7 - 98,3)
		Asymptomatique	746	90	17 ^e	638	1	98,9 (94,0 - 100)	97,4 (95,9 - 98,5)
		Tous	1322	217	31 ^f	1065	9	96,0 (92,6 - 98,2)	97,2 (96,0 - 98,1)
Femme	Écouvillon	Symptomatique	807	114	28 ^g	664	1	99,1 (95,3 - 100)	96,0 (94,2 - 97,3)
		Asymptomatique	636	59	22 ^h	553	2	96,7 (88,7 - 99,6)	96,2 (94,3 - 97,6)
		Tous	1443	173	50 ⁱ	1217	3	98,3 (95,1 - 99,6)	96,1 (94,8 - 97,1)
	Urine	Symptomatique	809	107	13 ^j	682	7	93,9 (87,8 - 97,5)	98,1 (96,8 - 99,0)
		Asymptomatique	639	58	13 ^k	565	3	95,1 (86,3 - 99,0)	97,8 (96,2 - 98,8)
		Tous	1448	165	26 ^l	1247	10	94,3 (89,7 - 97,2)	98,0 (97,0 - 98,7)
Collecté par la patiente	Écouvillon	Asymptomatique	629	60	25 ^m	543	1	98,4 (91,2 - 100)	95,6 (93,6 - 97,1)
Collecté par un clinicien	Écouvillon	Symptomatique	811	111	33 ⁿ	663	4	96,5 (91,3 - 99,0)	95,3 (93,4 - 96,7)
		Asymptomatique	638	60	32 ^o	545	1	98,4 (91,2 - 99,0)	94,5 (92,3 - 96,2)
		Tous	1449	171	65 ^p	1208	5	97,2 (93,5 - 99,1)	94,9 (93,5 - 96,0)

TP = vrai positif; FP = faux positif; TN = vrai négatif; FN = faux négatif.

Résultats du test CT Aptima Combo 2 : nbre de résultats positifs / nbre d'échantillons testés 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.

Étude sur des échantillons cliniques – Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Une étude clinique prospective multicentrique a été effectuée pour évaluer l'utilisation de la solution PreservCyt (un composant du système ThinPrep 2000) comme autre milieu pour les échantillons gynécologiques dans la détection de CT par le test CT Aptima. Mille-six-cent-quarante-sept (1 647) femmes symptomatiques ou asymptomatiques ayant consulté un gynécologue/obstétricien, un centre de planification familiale, une clinique publique, une clinique pour femmes ou une clinique de traitement des ITS, ont été évaluées dans le cadre de cette étude clinique. Sur les 1 647 sujets évaluables, 1 288 étaient des sujets asymptomatiques et 359 des sujets symptomatiques. Les sujets qui ont été inscrits provenaient de sites où la prévalence de CT s'échelonnait entre 2,8 % et 14,0 %.

Deux échantillons ont été recueillis par sujet admissible : un échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt et un échantillon endocervical sur écouvillon. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été collectés au moyen d'une spatule/cytobrosse ou d'un dispositif d'échantillonnage cervical en brosse de type balai. La distribution des dispositifs d'échantillonnage cervical est résumée au Tableau 5 par site de collecte d'échantillons et de manière globale.

Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été traités conformément au Manuel de l'utilisateur du processeur ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual) et à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima. Après traitement de l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt à l'aide du processeur ThinPrep 2000, l'échantillon a été transféré vers le kit de transfert d'échantillons Aptima pour analyse à l'aide du test CT Aptima.

La sensibilité et la spécificité du test CT Aptima avec les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été calculées en comparant les résultats à un algorithme de l'état d'infection des patientes. L'algorithme comprenait les résultats du test Aptima Combo 2 et du test CT Aptima sur les échantillons endocervicaux sur écouvillon. Les deux TAAN de référence devaient être positifs pour établir l'infection d'une patiente. Au moins un TAAN de référence devait être négatif pour établir que la patiente n'était pas infectée. Le Tableau 7e résume la fréquence des résultats des tests pour les deux TAAN de référence.

Le tableau 5a indique la sensibilité et la spécificité du test CT Aptima par état des symptômes et de manière globale. La sensibilité générale était de 95,6 % (86/90). Chez les sujets symptomatiques et les sujets asymptomatiques, la sensibilité était respectivement de 96,7 % (29/30) et de 95,0 % (57/60). La spécificité générale était de 98,8 % (1 539/1 557). Chez les sujets symptomatiques et les sujets asymptomatiques, la spécificité était respectivement de 98,8 % (325/329) et de 98,9 % (1 214/1 228).

Le tableau 6a indique la sensibilité et la spécificité du test CT Aptima par site de collecte d'échantillons et de manière globale. Les valeurs de sensibilité s'échelonnaient de 92,9 % à 100 %. Les valeurs de spécificité s'échelonnaient de 96,5 % à 100 %.

Tableau 5 : Distribution du dispositif d'échantillonnage cervical utilisé pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Dispositif d'échantillonnage cervical utilisé	Site clinique de collecte						Total
	1	2	3	4	5	6	
Spatule/cytobrosse	0	124	475	287	57	364	1 307
Dispositif endocervical de type balai	100	0	0	0	240	0	340

Tableau 5a : Sensibilité et spécificité du test CT Aptima par rapport à l'état d'infection des patientes par état des symptômes et de manière globale pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Échantillon	Résultats du test CT Aptima pour la solution PreservCyt					Sensibilité (%) (IC à 95 %)	Spécificité (%) (IC à 95 %)
		+/+	+/-	-/+	-/-		
Symptomatique	Positif	29	0	1	3	96,7 (29/30) (82,8 – 99,9)	98,8 (325/329) (96,9 – 99,7)
	Négatif	1	3	3	319		
	Total	30	3	4	322		
Asymptomatique	Positif	57	0	1	13	95,0 (57/60) (86,1 – 99,0)	98,9 (1214/1228) (98,1 – 99,4)
	Négatif	3	2	11	1 201		
	Total	60	2	12	1 214		
Tous	Positif	86	0	2	16	95,6 (86/90) (89,0 – 98,8)	98,8 (1539/1557) (98,2 – 99,3)
	Négatif	4	5	14	1 520		
	Total	90	5	16	1 536		

+/+ = résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test Aptima Combo 2 / résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test CT Aptima.

+/- = résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test Aptima Combo 2 / résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test CT Aptima.

-/+ = résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test Aptima Combo 2 / résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test CT Aptima.

-/- = résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test Aptima Combo 2 / résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test CT Aptima.

Tableau 6 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives pour le test CT Aptima par rapport à l'état d'infection des patientes par site clinique et de manière globale

Échantillon	Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	VPP (%)	VPN (%)		
Homme	Écouvillon	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	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
		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	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
		Tous	1321	221	43	1052	5	17,1	97,8 (94,9 - 99,3)	96,1 (94,7 - 97,1)	83,7	99,4	
Homme	Urine	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	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
		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	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
		Tous	1322	217	31	1065	9	17,1	96,0 (92,6 - 98,2)	97,2 (96,0 - 98,1)	87,5	99,2	
Femme	Écouvillon	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	
		Tous	1443	173	50	1217	3	12,2	98,3 (95,1 - 99,6)	96,1 (94,8 - 97,1)	77,6	99,8	
Femme	Urine	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	
		Tous	1448	165	26	1247	10	12,1	94,3 (89,7 - 97,2)	98,0 (97,0 - 98,7)	86,4	99,2	

Tableau 6 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives pour le test CT Aptima par rapport à l'état d'infection des patientes par site clinique et de manière globale (suite)

Échantillon	Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	VPP (%)	VPN (%)	
Collecté par la patiente	Écouvillon	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
		Tous	629	60	25	543	1	9,7	98,4 (91,2 - 100)	95,6 (93,6 - 97,1)	70,6	99,8
Collecté par un clinicien	Écouvillon	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
		Tous	1449	171	65	1208	5	12,1	97,2 (93,5 - 99,1)	94,9 (93,5 - 96,0)	72,5	99,6

TP = vrai positif; FP = faux positif; TN = vrai négatif; FN = faux négatif.

Tableau 6a : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives pour le test CT Aptima par rapport à l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Site	Test CT Aptima pour la solution PreservCyt Résultat	+/+	+/-	-/+	-/-	Prév. (%)	Sensibilité (%) (IC à 95 %)	Spécificité (%) (IC à 95 %)	VPP (%)	VPN (%)
1	Positif	14	0	1	2	14,0	100 (14/14) (76,8 – 100)	96,5 (83/86) (90,1 – 99,3)	82,4	100
	Négatif	0	0	0	83					
	Total	14	0	1	85					
2	Positif	4	0	0	0	3,2	100 (4/4) (39,8 – 100)	100 (120/120) (97,0 – 100)	100	100
	Négatif	0	0	2	118					
	Total	4	0	2	118					
3	Positif	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
	Négatif	2	0	2	436					
	Total	31	0	2	442					
4	Positif	8	0	0	4	2,8	100 (8/8) (63,1 – 100)	98,6 (275/279) (96,4 – 99,6)	66,7	100
	Négatif	0	3	1	271					
	Total	8	3	1	275					
5	Positif	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
	Négatif	1	1	4	275					
	Total	14	1	4	278					
6	Positif	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
	Négatif	1	1	5	337					
	Total	19	1	6	338					
Tous	Positif	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
	Négatif	4	5	14	1520					
	Total	90	5	16	1536					

+/+ = résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test Aptima Combo 2 / résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test CT Aptima.

+/- = résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test Aptima Combo 2 / résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test CT Aptima.

-/+ = résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test Aptima Combo 2 / résultat positif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test CT Aptima.

-/- = résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test Aptima Combo 2 / résultat négatif pour l'échantillon endocervical sur écouvillon à l'aide du test CT Aptima.

Tableau 7a : Résultats des échantillons urétraux masculins sur écouvillon et d'urine masculins chez des sujets infectés ou non infectés par *C. trachomatis* selon l'état d'infection des patients

État d'infection du patient	TAAN 1 (Test Aptima Combo 2)		TAAN 2		Test CT Aptima		État des symptômes		Total
	MS	MU	MS	MU	MS	MU	Sympt.	Asympt.	
	Infectée	+	+	+	+	+	+	96	
Infectée	+	+	+	+	+	-	5	1	6
Infectée	+	+	+	-	+	+	11	7	18
Infectée	+	+	-	+	+	+	13	11	24
Infectée	+	+	-	+	+	-	1	0	1
Infectée	+	+	-	+	-	+	1	0	1
Infectée	+	-	+	+	+	+	2	0	2
Infectée	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infectée	+	-	+	-	+	-	1	0	1
Infectée	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infectée	-	+	-	+	+	+	0	2	2
Infectée	-	+	-	+	-	+	3	1	4
Infectée	-	+	=	+	+	+	0	1	1
Non infecté	+	+	-	-	+	+	4	4	8
Non infecté	+	+	-	-	-	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	+	+	1	4	5
Non infecté	+	-	-	-	+	-	4	6	10
Non infecté	+	-	-	-	-	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	-	-	3	0	3
Non infecté	-	+	-	-	+	+	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	-	+	0	2	2
Non infecté	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	-	+	+	+	+	1	0	1
Non infecté	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Non infecté	-	-	-	-	+	+	1	1	2
Non infecté	-	-	-	-	+	-	11	5	16
Non infecté	-	-	-	-	-	+	4	4	8
Non infecté	-	-	-	-	-	-	403	618	1021
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	+	0	2	2
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	=	-	-	0	4	4
Non infecté	-	-	=	-	-	-	2	0	2
Non infecté	S.O.	-	-	-	S.O.	-	0	1	1
Total							576	746	1322

S.O. = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse.

MS = Écouvillon urétral masculin; **MU** = Urine homme.

Tableau 7b : Résultats des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine féminins chez des sujets infectés ou non infectés par *C. trachomatis* selon l'état d'infection des patientes

État d'infection de la patiente	TAAN 1 (Test Aptima Combo 2)		TAAN 2		Test CT Aptima		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Sympt.	Asympt.	
	Infectée	+	+	+	+	+	+	80	
Infectée	+	+	+	+	+	-	1	1	2
Infectée	+	+	+	-	+	+	10	5	15
Infectée	+	+	+	=	+	+	1	0	1
Infectée	+	+	-	+	+	+	9	3	12
Infectée	+	-	+	+	+	+	3	1	4
Infectée	+	-	+	+	+	-	2	2	4
Infectée	+	-	+	-	+	+	2	0	2
Infectée	+	-	+	-	+	-	4	0	4
Infectée	+	-	+	-	+	S.O.	1	0	1
Infectée	-	+	+	+	+	+	0	1	1
Infectée	-	+	-	+	+	+	1	3	4
Infectée	-	+	-	+	-	+	1	2	3
Non infecté	+	+	-	-	+	+	1	2	3
Non infecté	+	+	-	S.O.	+	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	+	+	0	2	2
Non infecté	+	-	-	-	+	-	12	7	19
Non infecté	+	-	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	-	+	-	-	+	+	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	-	+	4	3	7
Non infecté	-	+	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	-	-	+	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	+	-	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	-	+	+	0	2	2
Non infecté	-	-	-	-	+	-	11	9	20
Non infecté	-	-	-	-	-	+	5	4	9
Non infecté	-	-	-	-	-	-	636	526	1162
Non infecté	-	-	-	-	-	S.O.	1	0	1
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	2	3	5
Non infecté	-	-	-	=	-	-	12	10	22
Non infecté	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	S.O.	1	1	2
Non infecté	S.O.	-	-	-	S.O.	-	5	4	9
Non infecté	=	-	-	-	+	+	1	0	1
Non infecté	=	-	-	-	+	-	1	0	1
Total							812	640	1452

S.O. = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse.

FS = Écouvillon endocervical féminin; FU = Urine féminine. Sympt. = Symptomatique; Asympt. = Asymptomatique.

Tableau 7c : Résultats des échantillons vaginaux sur écouvillon collectés par des patientes asymptomatiques infectées ou non infectées par *C. trachomatis* selon l'état d'infection des patientes

État d'infection de la patiente	TAAN 1 (Test Aptima Combo 2)		TAAN 2		Test CT Aptima	Total
	FS	FU	FS	FU	PVS	
Infectée	+	+	+	+	+	44
Infectée	+	+	+	-	+	5
Infectée	+	+	-	+	+	3
Infectée	+	-	+	+	+	3
Infectée	-	+	+	+	+	1
Infectée	-	+	-	+	+	4
Infectée	-	+	-	+	-	1
Non infecté	+	+	-	-	+	2
Non infecté	+	-	-	-	+	4
Non infecté	+	-	-	-	+	1
Non infecté	+	-	-	-	-	2
Non infecté	+	-	-	-	-	3
Non infecté	-	+	-	-	+	2
Non infecté	-	+	-	-	-	2
Non infecté	-	-	+	-	-	1
Non infecté	-	-	-	+	-	2
Non infecté	-	-	-	-	+	5
Non infecté	-	-	-	-	+	10
Non infecté	-	-	-	-	-	15
Non infecté	-	-	-	-	-	500
Non infecté	-	-	-	-	-	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	9
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	2
Non infecté	-	-	-	S.O.	S.O.	1
Non infecté	-	-	-	=	-	1
Non infecté	-	-	-	=	-	8
Non infecté	-	-	-	=	-	1
Non infecté	-	-	=	-	-	1
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	+	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	-	3
Total						640

S.O. = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse.

FS = Écouvillon endocervical féminin; **FU** = Urine femme; **CVS** = Écouvillon vaginal collecté par un clinicien; **PVS** = Écouvillon vaginal collecté par une patiente asymptomatique.

Tableau 7d : Résultats pour les écouvillons vaginaux collectés par un clinicien chez des sujets infectés ou non infectés par *C. trachomatis* selon l'état d'infection des patientes

État d'infection de la patiente	TAAN 1 (Test Aptima Combo 2)		TAAN 2		Test CT Aptima	État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infectée	+	+	+	+	+	76	44	120
Infectée	+	+	+	+	-	2	0	2
Infectée	+	+	+	+	+	2	0	2
Infectée	+	+	+	+	+	1	0	1
Infectée	+	+	+	-	+	8	5	13
Infectée	+	+	+	-	-	1	0	1
Infectée	+	+	+	-	+	1	0	1
Infectée	+	+	+	=	+	1	0	1
Infectée	+	+	-	+	+	9	3	12
Infectée	+	-	+	+	+	5	3	8
Infectée	+	-	+	-	+	7	0	7
Infectée	-	+	+	+	+	0	1	1
Infectée	-	+	-	+	+	1	4	5
Infectée	-	+	-	+	-	1	0	1
Infectée	-	+	-	+	-	0	1	1
Non infecté	+	+	-	-	+	1	2	3
Non infecté	+	+	-	S.O.	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	+	3	4	7
Non infecté	+	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	+	-	-	-	+	2	2	4
Non infecté	+	-	-	-	-	5	3	8
Non infecté	+	-	-	-	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	+	5	2	7
Non infecté	-	+	-	-	-	0	2	2
Non infecté	-	-	+	-	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	+	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	-	+	4	5	9
Non infecté	-	-	-	-	-	6	10	16
Non infecté	-	-	-	-	+	16	15	31
Non infecté	-	-	-	-	-	614	500	1114
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	0	1	1
Non infecté	-	-	-	-	+	0	1	1
Non infecté	-	-	-	-	-	13	9	22
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	2	2	4
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	0	1	1
Non infecté	-	-	-	=	+	0	1	1
Non infecté	-	-	-	=	-	12	8	20
Non infecté	-	-	-	=	S.O.	0	1	1
Non infecté	-	-	=	-	-	1	1	2
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	0	1	1
Non infecté	-	S.O.	-	-	S.O.	1	0	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	-	5	3	8
Non infecté	=	-	-	-	-	2	0	2
Total						812	640	1452

S.O. = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse.

FS = Écouvillon endocervical féminin; FU = Urine femme; CVS = Écouvillon vaginal collecté par un clinicien. Sympt. = Symptomatique; Asympt. = Asymptomatique.

Tableau 7e : Résultats pour l'état d'infection des patientes par *C. trachomatis* provenant de l'étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

État d'infection de la patiente	Écouvillon endocervical		État des symptômes	
	Test Aptima Combo 2	Test CT Aptima	Symptomatique	Asymptomatique
Infectée	Positif	Positif	30	60
Non infectée	Négatif	Négatif	322	1214
Non infectée	Négatif	Positif	4	12
Non infectée	Positif	Négatif	3	2
Total			359	1288

Distribution des RLU des témoins Aptima

La distribution des RLU pour le témoin positif GC / témoin négatif CT Aptima et le témoin positif CT / témoin négatif GC Aptima pour toutes les séries de test CT Aptima effectuées lors des études d'échantillons cliniques est présentée au Tableau 8.

Tableau 8 : Distribution des RLU des témoins Aptima lors des études cliniques d'échantillons comprenant les études des échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Témoin	Statistiques	RLU (x 1 000)	
		Étude clinique des échantillons sur écouvillon et d'urine	Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt
Témoin positif GC / témoin négatif CT	N	198	209
	Moyenne	0,89	1,22
	Écart-type	2,94	2,63
	Maximum	26	36
	75° centile	1	1
	Médiane	0	1
	25° centile	0	1
	Minimum	0	0
Témoin positif CT / témoin négatif GC	N	198	209
	Moyenne	7 007	6 593
	Écart-type	776	709
	Maximum	8 884	10 383
	75° centile	7 440	7 025
	Médiane	7 066	6 661
	25° centile	6 621	6 205
	Minimum	988	4 419

Étude de la précision

La précision du test CT Aptima (c.-à-d. sa reproductibilité) a été évaluée dans deux sites cliniques externes et chez Hologic. La précision du test CT Aptima a été évaluée pour trois lots de kit de test CT Aptima, trois sites d'étude, six utilisateurs et 108 séries de test CT Aptima. Deux utilisateurs à chacun des trois sites de test ont effectué un total de six séries de test CT Aptima par lot de kit pour un total de 36 séries par lot de kit. Chaque série était composée d'un panel de précision de 12 membres contenant de 0 à 2 000 fg/test de rRNA CT. La reproductibilité du test a été établie à l'aide d'un milieu de transport d'écouvillons enrichi de rRNA. La reproductibilité lors des tests d'échantillons sur écouvillon et urinaires contenant l'organisme cible n'a pas été déterminée. Le tableau 9 présente les données de précision des mesures de RLU pour ce qui est des valeurs moyennes, de l'écart-type (SD), du coefficient de variation (CV) et du pourcentage de concordance avec les résultats attendus pour les calculs de variabilité entre sites, entre lots, entre utilisateurs, entre séries et au sein d'une même série.

Tableau 9 : Données de précision du test CT Aptima obtenues à l'aide d'un panel de précision de 12 membres contenant de 0 à 2 000 fg/test de rRNA CT

Concentration	N	RLU moyenne (x1 000)	% Concord.	Intra-série		D'un site à l'autre		D'un lot à l'autre		D'un utilisateur à l'autre		D'une série à l'autre	
				Écart-type (RLU x 1 000)	CV (%)	Écart-type (RLU x 1 000)	CV (%)	Écart-type (RLU x 1 000)	CV (%)	Écart-type (RLU x 1 000)	CV (%)	Écart-type (RLU x 1 000)	CV (%)
Nég. (0 fg/mL)	540	0,7	100	0,7	S.O.	0,5	S.O.	0,3	S.O.	0,4	S.O.	0	S.O.
Faible (12 fg/mL)	216	7143,4	100	200,3	2,8	335,6	4,7	207,7	2,9	537,3	7,5	558,8	7,8
Moy. (250 fg/mL)	108	7084,9	100	162,2	2,3	275,1	3,9	159,5	2,3	546,3	7,7	578,2	8,2
Moy. (2 500 fg/mL)	108	6991,1	100	150,7	2,2	279,4	4,0	117,8	1,7	532,3	7,6	534,9	7,7
Élev. (5 000-5 135 fg/mL)	324	7133,4	100	229,2	3,2	301,0	4,2	129,0	1,8	531,7	7,5	618,3	8,7

SD = Écart-type; CV (%) = Pourcentage du CV; % Concord. = Pourcentage d'accord.

Remarque : La variabilité découlant de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Si tel est le cas, la variabilité mesurée avec SD et %CV est fixée à zéro (16).

S.O. = ne s'applique pas pour un analyte négatif.

La précision dans un même laboratoire du test CT Aptima sur des échantillons en milieu PreservCyt a été déterminée par l'ensemencement des flacons de PreservCyt à l'aide de 20 IFU de CT par flacon (0,1 IFU par réaction) et de 100 IFU de CT par flacon (0,5 IFU par réaction). Des flacons contenant 1 000 IFU de CT par flacon (5 IFU par réaction) et des flacons de PreservCyt non ensemencés ont été utilisés comme témoins positifs et négatifs. Dix flacons ensemencés à chacun des taux d'IFU et dix flacons non ensemencés ont été répartis entre deux utilisateurs. Les utilisateurs ont vortexé les flacons, puis transféré 14 aliquotes (de 1,0 mL chacune) par flacon dans 14 tubes de transfert Aptima, conformément à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima. Les utilisateurs ne connaissaient pas le titre des échantillons. Chacun des échantillons frottis-STM obtenu a été testé une fois à l'aide du test CT Aptima. Au total, cinq séries ont été effectuées sur une période de cinq jours et 140 résultats ont été obtenus pour chacun des taux d'IFU. Les résultats sont résumés au Tableau 10.

Tableau 10 : Données de précision au sein d'un laboratoire du test CT Aptima sur des échantillons en milieu PreservCyt obtenues à l'aide d'un panel de précision de 4 membres contenant de 0 à 1 000 IFU/20 mL de cellules de CT

Membre du panel	IFU/20 mL PreservCyt	IFU/réaction	n	Concordant	% Concord.	RLU moyenne (x1 000)	Pour un même utilisateur		D'un jour à l'autre		D'un utilisateur à l'autre		Total	
							Écart-type (x1 000)	CV (%)	Écart-type (x1 000)	CV (%)	Écart-type (x1 000)	CV (%)	Écart-type (x1 000)	CV (%)
A	20	0,1	140	140	100	6501,7	734,8	11,3	0	0,0	546,9	8,4	916	14,1
B	100	0,5	140	138*	98,6	6337,7	1054,7	16,6	0	0,0	947,2	14,9	1417,6	22,4
C	1000	5	140	140	100	6521,9	909	13,9	247,1	3,8	393,9	6	1021	15,7
D	0	0	140	140	100	1,2	0,8	S.O.	0	S.O.	0,4	S.O.	0,9	S.O.

* les résultats discordants consistaient en un résultat négatif et un résultat équivoque

Remarque : La variabilité découlant de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Si tel est le cas, la variabilité mesurée avec SD et %CV est fixée à zéro (16).

S.O. = sans objet pour les membres du panel ayant un résultat négatif. Utilisateur = Série. Les échantillons offrant des résultats discordants ont été inclus dans l'analyse de variabilité du signal.

Rendement analytique des DTS Systems

Consulter *Rendement analytique du Tigris DTS System* après le chapitre *Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System* pour connaître le rendement analytique spécifique au Tigris DTS System.

Consulter *Rendement analytique du Panther System* pour connaître le rendement analytique spécifique au Panther System.

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique (seuil de détection) pour *C. trachomatis* a été déterminée en comparant directement des dilutions d'organismes de CT en culture cellulaire et à l'aide du test CT Aptima. Le seuil de sensibilité analytique revendiqué pour le test est d'une IFU (unité de formation d'inclusions) par test (7,25 IFU/écouvillon, 5 IFU/mL d'urine, et 9,75 IFU/mL de frottis en milieu PreservCyt) pour l'ensemble des 15 sérotypes de CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 et L3). Toutefois, les dilutions inférieures à moins d'une IFU/test ont donné des résultats positifs pour tous les sérotypes.

Spécificité analytique

Au total, 154 isolats de culture ont été évalués à l'aide du test CT Aptima. Ces isolats comprenaient 86 organismes pouvant être isolés du tractus urogénital et 68 organismes supplémentaires qui représentent un échantillon phylogénétique d'organismes représentatif. Les organismes testés comprenaient des bactéries, des champignons, des levures, des parasites et des virus. Tous les organismes, à l'exception de *C. psittaci*, de *C. pneumoniae*, d'*U. urealyticum* et des virus ont été testés à $1,0 \times 10^6$ cellules/test dans le milieu de transport KOVA-Trol/Urine et 60 organismes dans le milieu de transport d'écouvillon. Les organismes Chlamydia et Neisseria ont été testés dans le milieu PreservCyt. *C. psittaci* VR601 a été testé à $8,0 \times 10^4$ cellules/test et *C. psittaci* VR125 à $1,0 \times 10^5$ cellules/test. *C. pneumoniae* a été testé à 4×10^3 cellules/test et *U. urealyticum* à $6,7 \times 10^6$ cellules/test. La présence de virus a été déterminée de la manière suivante : (a) virus de l'herpès simplex I : $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) virus de l'herpès simplex II : $6,0 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (c) papillomavirus humain 16 : $2,9 \times 10^6$ copies de DNA/test et (d) cytomégalovirus : $4,8 \times 10^5$ cellules/test. La liste des organismes testés est indiquée au Tableau 11.

Tableau 11 : Spécificité analytique

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

(n) = nombre de souches testées. Tous les organismes testés ont donné un résultat négatif au test CT Aptima.

Substances interférentes

Les substances interférentes suivantes ont été enrichies individuellement dans les échantillons sur écouvillon, de frottis en milieu liquide PreservCyt et/ou d'urine : sang 10 %, gel contraceptif, spermicide, hydratant, anesthésiant hémorroïdal, huile corporelle, poudre, crème anti-fongique, lubrifiants vaginaux, vaporisateur intime et leucocytes (1×10^6 cellules/mL). Les substances interférentes suivantes ont été enrichies individuellement dans les échantillons d'urine : sang 30 %, analytes urinaires, protéines, glucose, cétones, bilirubine, nitrates, urobilinogène, pH 4 (acide), pH 9 (alcalin), leucocytes (1×10^6 cellules/mL), débris cellulaires, vitamines, minéraux, acétaminophène, aspirine et ibuprofène. Toutes ces substances ont été testées quant à leur interférence éventuelle avec le test en l'absence ou en présence de CT pour une concentration de rRNA estimée équivalente à 1 cellule/test (5 fg/test). Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque

organisme. Aucune interférence n'a été relevée avec l'ensemble des substances testées. Aucun inhibiteur d'amplification n'a été observé dans le test CT Aptima.

Récupération

Escherichia coli, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus* et *Staphylococcus epidermidis* (1×10^8 cellules/test) ont été ajoutés aux échantillons contenant une concentration de rRNA équivalente à environ une IFU de CT (5 fg). Ces ajouts n'ont pas nuï à l'amplification ni à la détection du rRNA de CT à l'aide du test CT Aptima.

Études de la stabilité des échantillons

A. Échantillons sur écouvillon et d'urine

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons endocervicaux, urétraux et vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon ont été obtenues à l'aide d'échantillons sur écouvillon négatifs groupés. Les échantillons groupés ont étéensemencés avec CT à une concentration finale de 1 IFU par réaction. Les échantillons enrichis ont été maintenus à -70 °C, à -20 °C, à 4 °C ou à 30 °C. Ces échantillons ont été testés en double aux jours 0, 20, 77 et 117. Toutes les conditions de test ont donné des résultats positifs pour CT pour toutes les durées et températures.

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons d'urine ont été obtenues à l'aide d'échantillons d'urine féminins et masculins négatifs. Les échantillons d'urine ont étéensemencés avec CT à une concentration finale de 10 IFU par réaction. Deux séries d'échantillons d'urineensemencés ont été maintenus à 30 °C pendant 24 heures avant d'être ajoutés au milieu de transport d'urine (Urine Transport Media, UTM). Les deux séries d'échantillons dans l'UTM ont été maintenues à 4 °C et à 30 °C et testées en triple aux jours 0, 1, 5, 20 et 35. Tous les échantillons étaient positifs pour CT à tous les intervalles-temps. Les deux séries d'échantillons dans l'UTM ont également été testées après 116 jours de conservation à -20 °C et à -70 °C. Tous les échantillons étaient positifs pour CT dans les deux conditions de conservation.

B. Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Les données destinées à confirmer les conditions d'expédition et de conservation recommandées pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été obtenues à l'aide d'échantillons de frottis liquides traités et non traités. Pour les échantillons non traités, quatre ensembles d'échantillons groupés de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été testés après avoir été conservés dans le flacon de solutions PreservCyt. Chaque ensemble d'échantillons groupés a étéensemencé avec 1 à 10 IFU de CT/test, maintenu à 2 °C, à 10 °C et à 30 °C, puis testé au départ et aux jours 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 et 36. Tous les échantillonsensemencés étaient positifs pour CT pour toutes les durées et températures.

Pour les échantillons traités, quatre ensembles d'échantillons groupés de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été utilisés pour déterminer la stabilité des échantillons traités entre 2 °C et 30 °C. Chaque ensemble d'échantillons groupés négatif a étéensemencé avec 1 à 10 IFU de CT/test, puis testé au départ. Avant le traitement, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été conservés à 30 °C pendant sept (7) jours pour simuler le laps de temps entre la collecte des échantillons, le traitement et l'expédition des frottis dans un laboratoire de tests microbiologiques. Après sept jours à 30 °C, des aliquotes de 1 mL de chaque ensemble ont été transférées dans un tube de transfert

d'échantillons Aptima et testées au départ avant d'être placées à 2 °C, à 10 °C et à 30 °C. Les échantillons traités ont été testés après 17 jours de conservation à 30 °C et 36 jours de conservation entre 2 °C et 10 °C. Tous les échantillonsensemencés étaient positifs pour CT pour toutes les durées et températures.

Les données destinées à confirmer les conditions de conservation plus longues ont été obtenues à l'aide de quatre ensembles d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt groupés négatifs traités testés à des températures inférieures au point de congélation. Chaque ensemble a étéensemencé avec de 1 à 10 IFU de CT/test, puis testé au départ. Chaque ensemble a tout d'abord été placé à 30 °C pendant 14 jours, puis conservé à -20 °C ou à -70 °C sur 106 jours. Tous les échantillonsensemencés étaient positifs pour CT pour toutes les durées et températures.

C. Étude de stabilité supplémentaire des échantillons congelés (à -20 °C)

Les données destinées à valider les conditions de conservation à -20 °C recommandées pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, d'urine féminins et masculins et de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été obtenues à l'aide de 90 échantillons pour chaque type ayant produit un résultat négatif. Parmi ces échantillons, 30 ont été enrichis avec CT à un taux de 1,0 IFU par réaction, trente ont été enrichis à un taux de 0,1 IFU par réaction et 30 n'ont pas été enrichis. Les échantillons ont été conservés à -20 °C et ont été testés aux jours 0, 200 et 400. Tous les échantillonsensemencés ont satisfait les critères d'acceptation, à savoir une concordance supérieure à 95 % avec les résultats attendus.

Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System

Concordance avec le Tigris DTS System

La concordance entre les résultats du test CT Aptima obtenus à l'aide du Tigris DTS System entièrement automatique et des DTS Systems semi-automatiques a été évaluée en testant des échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon, d'urine masculins et féminins, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt. Chaque échantillon clinique a été testé individuellement à l'aide du test CT Aptima sur le Tigris DTS System et sur les DTS Systems chez Hologic. L'ordre des tests n'était pas aléatoire. Les échantillons identifiés pour l'inclusion ont d'abord été testés à l'aide du Tigris DTS System et sur les DTS Systems par la suite.

Étude de la concordance des échantillons cliniques endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon, d'urine masculins et féminins, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt

Des sujets masculins et féminins ayant consulté une clinique de traitement des ITS, un centre de planification familiale ou un gynécologue/obstétricien dans huit sites géographiquement distincts avec une prévalence d'infection à CT s'échelonnant de faible à élevée ont fourni des échantillons endocervicaux féminins ou urétraux masculins sur écouvillon, d'urine masculins ou féminins, vaginaux sur écouvillon ou de frottis en milieu liquide PreservCyt. Les échantillons ont été transférés directement chez Hologic pour être testés alors que les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été traités dans deux laboratoires de cytopathologie avant leur transfert. Chez Hologic, les échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon ainsi que les échantillons d'urine masculins et féminins ont d'abord été testés à l'aide du test Aptima Combo 2 sur le Tigris DTS System, et les échantillons sur écouvillon vaginal et de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été dépistés à l'aide du test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems. Les échantillons dont les résultats définitifs étaient invalides ou équivoques n'ont pas été retenus pour l'étude de la concordance des échantillons cliniques CT Aptima.

Deux-cent-cinq échantillons d'écouvillons féminins (87 endocervicaux et 118 vaginaux), 120 échantillons d'écouvillons urétraux masculins, 98 échantillons d'urine féminins, 115 échantillons d'urine masculins et 116 échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ayant des résultats positifs ou négatifs au test CT Aptima Combo 2 ont été sélectionnés pour des tests comparatifs entre le Tigris DTS System et les DTS Systems à l'aide du test CT Aptima. Les échantillons ayant des résultats initiaux invalides ou équivoques ont été testés à nouveau à l'aide du même système que celui sur lequel les résultats avaient été obtenus. Un échantillon d'urine féminin, dont le résultat était initialement équivoque sur les DTS Systems, a donné un résultat final valide après réanalyse. Un échantillon d'urine masculin, dont le résultat était initialement invalide sur le Tigris DTS System, a donné un résultat final valide après réanalyse. Un échantillon d'urine féminin, dont le résultat était initialement équivoque sur le Tigris DTS System, a été réanalysé. Cependant l'échantillon était périmé et le résultat final est donc resté équivoque.

Le Tableau 12 montre les concordances positives, négatives et globales pour tous les résultats appariés de chaque type d'échantillon selon l'état symptomatique. Les échantillons sont relativement peu équilibrés selon l'état symptomatique et asymptomatique, mais la concordance globale pour les sujets symptomatiques était de 98,5 % (131/133) pour les échantillons sur écouvillon féminins (écouvillons endocervicaux et vaginaux combinés), de 100 % (60/60) pour les échantillons sur écouvillon urétraux masculins, de 98,2 % (55/56) pour les échantillons d'urine féminins, de 100 % (60/60) pour les échantillons d'urine

masculins et de 100 % (81/81) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Chez les sujets asymptomatiques, la concordance globale était respectivement de 100 % pour 72 échantillons féminins sur écouvillon, 60 échantillons urétraux masculins sur écouvillon, 42 échantillons d'urine féminins, 55 échantillons d'urine masculins et 35 échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Pour « Tous » les sujets (symptomatiques et asymptomatiques combinés), la concordance globale était de 99,0 % (203/205) pour les échantillons sur écouvillon féminins (écouvillons endocervicaux et vaginaux combinés), de 100 % (120/120) pour les échantillons urétraux masculins sur écouvillon, de 99,0 % (97/98) pour les échantillons d'urine féminins, de 100 % (115/115) pour les échantillons d'urine masculins, et de 100 % (116/116) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. En raison du nombre relativement plus petit d'échantillons de sujets asymptomatiques, il est possible que ces conclusions ne s'étendent pas aux tests CT Aptima à l'aide du Tigris DTS System sur des échantillons de sujets asymptomatiques.

Se référer aux Tableaux 4 et 5a pour les estimations de sensibilité et de spécificité pour le test CT Aptima sur les DTS Systems. La sensibilité et la spécificité du test CT Aptima à l'aide du Tigris DTS System devraient être similaires étant donné que les résultats concordent.

Tableau 12 : Étude de la concordance des échantillons cliniques : concordance positive, négative et globale par état des symptômes

État des symptômes	Échantillon	Sexe	n	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris-	DTS- Tigris+	DTS- Tigris-	% de concordance positive (IC à 95 %)	% de concordance négative (IC à 95 %)	% de concordance globale (IC à 95 %)
Sympt.	Écouvillon	Femme*	133	63	1	1	68	98,4 (91,6-100)	98,6 (92,2-100)	98,5 (94,7-99,8)
		Homme	60	42	0	0	18	100 (91,6-100)	100 (81,5-100)	100 (94,0-100)
	Urine	Femme	56	33	0	1 ¹	22	100 (89,4-100)	95,7 (78,1-99,9)	98,2 (90,4-100)
		Homme	60	41	0	0	19	100 (91,4-100)	100 (82,4-100)	100 (94,0-100)
	PreservCyt	Femme	81	39	0	0	42	100 (91,0-100)	100 (91,6-100)	100 (95,5-100)
	Asympt.	Écouvillon	Femme*	72	41	0	0	31	100 (91,4-100)	100 (88,8-100)
Homme			60	23	0	0	37	100 (85,2-100)	100 (90,5-100)	100 (94,0-100)
Urine		Femme	42	23	0	0	19	100 (85,2-100)	100 (82,4-100)	100 (91,6-100)
		Homme	55	20	0	0	35	100 (83,2-100)	100 (90,0-100)	100 (93,5-100)
PreservCyt		Femme	35	25	0	0	10	100 (86,3-100)	100 (69,2-100)	100 (90,0-100)
Tous		Écouvillon	Femme*	205	104	1	1	99	99,0 (94,8-100)	99,0 (94,6-100)
	Homme		120	65	0	0	55	100 (94,5-100)	100 (93,5-100)	100 (97,0-100)
	Urine	Femme	98	56	0	1 ¹	41	100 (93,6-100)	97,6 (87,4-99,9)	99,0 (94,4-100)
		Homme	115	61	0	0	54	100 (94,1-100)	100 (93,4-100)	100 (96,8-100)
	PreservCyt	Femme	116	64	0	0	52	100 (94,4-100)	100 (93,2-100)	100 (96,9-100)

"+" indique un résultat positif, "-" un résultat négatif, IC = intervalle de confiance.

*Échantillons endocervicaux et vaginaux sur écouvillon combinés.

¹L'échantillon a donné un résultat final équivoque sur le Tigris DTS System.

Étude de la précision

L'effet de plusieurs facteurs sur la variabilité du rendement du test CT Aptima sur le Tigris DTS System a été évalué à l'aide de panels de reproductibilité pour les ITS de 12 membres. Les membres des panels contenaient de 0 à 5 000 fg de rRNA CT/test. Le panel comportait des membres de panel ayant une concentration de CT de 5 fg de rRNA CT/test, soit le seuil de sensibilité analytique revendiqué.

Les panels ont été testés à l'un des sites de test externes et chez Hologic à l'aide de deux lots de réactifs de test CT Aptima. Chez Hologic, deux utilisateurs ont effectué chacun trois listes de travail valides par lot de réactifs sur chacun des deux appareils Tigris DTS System. Au site externe, deux utilisateurs ont effectué trois listes de travail valides chacun par lot de réactifs sur un appareil Tigris DTS System. Une liste de travail consistait en des témoins de série et six panels de 12 membres.

La reproductibilité a été déterminée en calculant la concordance entre les résultats finaux du test et le résultat attendu pour chaque membre du panel. La reproductibilité a également été évaluée en calculant l'écart-type et le coefficient de variation (CV) du signal selon les sites, les utilisateurs, les lots et les listes de travail. Les CV n'ont pas été calculés pour les membres des panels négatifs à CT en raison des valeurs de signal faibles qui pourraient théoriquement équivaloir à zéro. Le Tableau 13 indique les résultats de reproductibilité. Les résultats du test CT Aptima sur le Tigris DTS System ont concordé avec les résultats attendus. Les valeurs de CV étaient inférieures ou égales à 3,4 %. Ces données indiquent une reproductibilité excellente du test CT Aptima à l'aide du Tigris DTS System.

Tableau 13 : Données de précision pour le Tigris DTS System

Conc. (fg de rRNA par test)	n	RLU moyenne (x1 000)	% Con- cord.	D'un site à l'autre		D'un utilisateur à l'autre		D'un lot à l'autre		D'une liste de travail à l'autre		Dans une même liste de travail	
				Écart-type ¹ (x1 000)	CV ¹ (%)	Écart- type (x1 000)	CV (%)	Écart- type ¹ (x1 000)	CV (%)	Écart- type (x1 000)	CV (%)	Écart- type (x1 000)	CV (%)
0	863	2,9	100	1,4	S.O.	0,3	S.O.	0,0	S.O.	0,2	S.O.	2,2	S.O.
5	432	7041	100	32,0	0,5	217	3,1	63,7	0,9	174	2,5	206	2,9
50	433 ²	7090	100	0,0	0,0	224	3,2	93,1	1,3	168	2,4	189	2,7
500	431 ³	7130	100	0,0	0,0	240	3,4	96,9	1,4	164	2,3	217	3,0
5 000	432	7152	100	0,0	0,0	208	2,9	85,7	1,2	179	2,5	211	3,0

Concord. = concordance, Conc. = concentration, CV = coefficient de variation, S.O. = ne s'applique pas aux échantillons négatifs, RLU = unité relative de lumière, SD = écart-type.

¹ Des valeurs SD et CV sont établies à 0 et 0,0 %, respectivement, selon le modèle des effets aléatoires, si la variabilité due à cette source par rapport aux erreurs aléatoires et/ou à la variation d'autres sources est numériquement négative.

² Une liste de travail comportait 1 réplicat supplémentaire d'un membre du panel avec 50 fg de rRNA/test.

³ Il manquait 1 réplicat d'un membre du panel avec 500 fg de rRNA/test dans une liste de travail.

Rendement analytique du Tigris DTS System

Consulter *Rendement analytique du Panther System* pour connaître le rendement analytique spécifique au Panther System.

Étude de l'équivalence de la sensibilité analytique

Les panels de sensibilité des ensembles d'échantillons endocervicaux sur écouvillon groupés, des ensembles d'échantillons vaginaux sur écouvillon groupés, des ensembles d'échantillons d'urine groupés et des ensembles d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt groupés ont été préparés avec une concentration de rRNA de CT équivalente à 1 IFU par test (7,25 IFU/écouvillon et 5 IFU/mL d'urine) et 60 réplicats ont été testés sur le Tigris DTS System. Le pourcentage de positivité (IC à 95 %) pour le Tigris DTS System était de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon, de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons vaginaux sur écouvillon, de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons d'urine, et de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.

Étude clinique des panels enrichis avec du rRNA de CT

L'étude clinique des panels enrichis avec du rRNA de CT visait à évaluer la concordance entre les deux systèmes (Tigris DTS System et DTS Systems) à l'aide de six panels cliniques de CT préparés par Hologic enrichis avec entre 0 et 5 000 fg de rRNA/test de CT. Les panels cliniques de CT ont été créés à partir d'échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux sur écouvillon, d'échantillons d'urine masculins et féminins et d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt dont les résultats au test CT Aptima à l'aide des DTS Systems étaient négatifs lorsqu'ils ont été testés chez Hologic. Les échantillons négatifs ont été groupés par type d'échantillon, enrichis ou non enrichis avec du rRNA de CT et aliquotés comme réplicats de chacun des membres du panel. Les réplicats de chacun des 6 membres du panel avec des taux d'enrichissement en rRNA différents ont été combinés de manière à créer un panel clinique de chaque type d'échantillon. Chaque panel contenait un total de 132 réplicats.

Le Tableau 14 indique le pourcentage de concordance pour chaque concentration de rRNA dans les panels d'écouvillons endocervicaux, d'écouvillons vaginaux, d'écouvillons urétraux, d'échantillons d'urine masculins, d'échantillons d'urine féminins et d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, respectivement, avec les résultats CT attendus pour le Tigris DTS System et les DTS Systems. La concentration s'échelonnait de 1 log en dessous à 3 logs au-dessus de 5 fg de rRNA/test pour CT. Le Tableau 14 indique également les pourcentages de concordance globale de l'étude des panels cliniques entre le Tigris DTS System et les DTS Systems.

Tableau 14 : Étude clinique de la concordance des panels enrichis avec du rRNA de CT

Échantillon	Membre du panel	Concentration (fg de rRNA/test)	Réplicats	% concordance Tigris	% concordance DTS	% de concordance globale entre Tigris et DTS (95 % CI)	
Endocervical	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Très faible	0,5	30	100	100		
	Faible	5	30	100	100		
	Moyen	50	30	100	100		
	Élevé	5 000	30	100	100		
Écouvillon Vaginal	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Très faible	0,5	30	100	100		
	Faible	5	30	100	100		
	Moyen	50	30	100	100		
	Élevé	5 000	30	100	100		
Urétral	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Très faible	0,5	30	100	100		
	Faible	5	30	100	100		
	Moyen	50	30	100	100		
	Élevé	5 000	30	100	100		
Urine	Sans cible	0	12	91,7 (11/12)	100	99,2 (95,9-100)	
	Très faible	0,5	30	100	100		
	Faible	5	30	100	100		
	Moyen	50	30	100	100		
	Élevé	5 000	30	100	100		
	Femme	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Très faible	0,5	30	100	100	
		Faible	5	30	100	100	
		Moyen	50	30	100	100	
		Élevé	5 000	30	100	100	
Échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Très faible	0,5	30	100	100		
	Faible	5	30	100	100		
	Moyen	50	30	100	100		
	Élevé	5 000	30	100	100		

Étude de l'équivalence de la spécificité analytique

Pour un test d'amplification de l'acide nucléique, la spécificité analytique concernant les organismes individuels est en grande partie déterminée par la chimie du test (par ex., séquences d'oligonucléotides) plutôt que par la plate-forme. Étant donné que les réactifs du test CT Aptima sont identiques entre le Tigris DTS System et les DTS Systems, les tests de spécificité analytique sur le Tigris DTS System étaient destinés à vérifier les isolats de culture les plus complexes. Parmi ces organismes figuraient ceux qui sont connus pour avoir une réactivité croisée dans d'autres tests d'amplification. Vingt-quatre (24) isolats de culture ont été sélectionnés à partir du panel d'organismes du Tableau 11, y compris 3 organismes qui sont le plus étroitement apparentés à CT. Tous les organismes testés ont donné des résultats négatifs sur le Tigris DTS System.

Étude de l'équivalence des substances interférentes

Le sang total, une substance que l'on trouve couramment dans les échantillons urogénitaux et connue pour interférer avec certains tests d'amplification, a été utilisé pour démontrer que le Tigris DTS System tolère un taux de substances potentiellement interférentes similaire à celui des DTS Systems. Du sang frais a été ajouté aux ensembles groupés d'échantillons cliniques sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, d'urine et de frottis en milieu liquide PreservCyt, qui ont ensuite été testés pour rechercher une éventuelle interférence avec le test en l'absence et en présence de la cible CT à une concentration de rRNA estimée équivalente à une IFU de CT/test (5 fg/test). Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme. Les échantillons ont été testés sur deux Tigris DTS Systems. Tous les échantillons contenant l'acide nucléique cible étaient positifs lorsqu'ils ont été testés à un taux de sang de 10 % dans les échantillons cliniques sur écouvillon, les échantillons vaginaux sur écouvillon et les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, et à un taux de 30 % de sang dans les échantillons d'urine. Tous les échantillons qui ne contenaient pas la cible étaient négatifs pour CT. Ces résultats indiquent qu'aux taux testés, le sang total n'influence vraisemblablement pas les résultats du test CT sur le Tigris DTS System.

Études de la contamination de transfert pour le Tigris DTS System

Afin d'établir que le Tigris DTS System minimise les risques de résultats faussement positifs liés à une contamination de transfert, une étude a été réalisée à l'aide de panels enrichis sur trois Tigris DTS Systems. Dans cette étude, on a utilisé 20 % des échantillons avec une valeur cible élevée contenant 1×10^6 fg de rRNA CT/mL, qui ont été aléatoirement répartis parmi les 80 % d'échantillons négatifs contenant le milieu de transport de l'écouvillon. Dans l'étude, 576 échantillons avec une valeur cible élevée et 2 376 échantillons négatifs ont été testés sur les trois Tigris DTS Systems. Le Tableau 15 indique que le taux de contamination général était en moyenne de 0,21 % (5/2 364). Au total, 12 échantillons négatifs ont été signalés comme invalides et exclus des calculs. Une analyse distincte a été effectuée sur un sous-ensemble de la population de l'étude constitué des échantillons négatifs testés immédiatement à la suite des résultats positifs avec une valeur cible élevée. Le taux de contamination de ce sous-ensemble de la population était en moyenne de 0,47 % (2/424). Concernant les résultats faussement positifs de ce sous-ensemble, le taux de contamination variait de 0 % à 1,43 % sur les trois Tigris DTS Systems. Ces résultats indiquent que la contamination est minimisée sur le Tigris DTS System.

Tableau 15 : Résumé de la contamination de transfert globale sur le Tigris DTS System

Appareil	Nbre de tests négatifs valides	Nbre total de résultats CT faussement positifs	% de résultats CT faussement positifs	Intervalles de confiance (IC à 95 %)
Tigris 1	789	2 ^a	0,25	0,03 - 0,91
Tigris 2	783	3 ^b	0,38	0,08 - 1,12
Tigris 3	792	0 ^c	0,00	0,00 - 0,38
Tous les appareils	2364	5	0,21	0,07 - 0,49

- Aucun résultat CT faussement positif n'a été détecté avec l'appareil Tigris DTS System 1 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.
- Deux résultats CT faussement positifs ont été détectés avec l'appareil Tigris DTS System 2 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.
- Aucun résultat CT faussement positif n'a été détecté avec l'appareil Tigris DTS System 3 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.

Rendement analytique du Panther System

Étude de reproductibilité

La reproductibilité du test CT Aptima a été évaluée dans deux laboratoires externes des États-Unis et chez Hologic à l'aide du Panther System. Les tests ont été effectués sur une période de six jours à l'aide de trois lots de kit de réactifs et par six utilisateurs au total (deux à chaque site). Les membres du panel de reproductibilité ont été créés à l'aide du milieu de transport des échantillons (specimen transport medium, STM). Les membres positifs pour CT du panel ont été créés par l'ensemencement du milieu de transport des échantillons avec des cellules afin de produire des membres du panel ayant les concentrations cibles attendues (très faiblement positif, faiblement positif ou positif).

Le Tableau 16 présente, pour chaque membre du panel, les données de RLU pour ce qui est des valeurs moyennes, de l'écart-type (SD) et du coefficient de variation (CV) entre sites, entre lots, entre utilisateurs, entre séries, au sein d'une même série et de manière globale. Le pourcentage de concordance avec les résultats attendus est également présenté. Les échantillons ayant des résultats valides ont été inclus dans les analyses.

Tableau 16 : Données de reproductibilité du Panther System

Membre du panel	Concordants/N	Concord. (%)	RLU moyenne (x1 000)	Entre sites		Entre utilisateurs		Entre lots		Entre séries		Dans une même série		Total	
				Écart-type (x1 000)	CV (%)	Écart-type (x1 000)	CV (%)	Écart-type (x1 000)	CV (%)	Écart-type (x 1000)	CV (%)	Écart-type (x1 000)	CV (%)	Écart-type (x1 000)	CV (%)
Négatif	107/107 ¹	100	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
Très faiblement positif	108/108	100	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
Faible Positif	108/108	100	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
Positif	107/107 ¹	100	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

Concord. = concordance, CV = coefficient de variation, N = nombre de membres du panel, SD = écart-type.

¹Un résultat invalide a été exclu de l'analyse.

Remarque : La variabilité découlant de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Si tel est le cas, la variabilité mesurée avec l'écart-type et le %CV est fixée à zéro.

Étude de sensibilité analytique

La sensibilité analytique du test CT Aptima a été évaluée à l'aide de quatre matrices d'échantillons représentatifs. Ces échantillons étaient des échantillons d'urine, des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, des échantillons vaginaux sur écouvillon et des échantillons dans le milieu de transport des échantillons. Des panels ont été créés par l'enrichissement de ces matrices à l'aide de rRNA de CT à une concentration de rRNA équivalente à 0,25 IFU/mL et à 2,5 IFU/mL (0,5 fg/test and 5 fg/test). Ces panels ont été analysés par réplicats de 60 par membre du panel sur trois Panther Systems à l'aide de deux lots de réactifs. La concordance positive avec les résultats attendus a été calculée. La concordance avec les résultats attendus était de 100 % (IC à 95 % 95,7–100 %) pour tous les panels d'échantillons d'urine, pour tous les panels d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, pour tous les panels d'échantillons vaginaux sur écouvillon et pour tous les panels d'échantillons dans le milieu STM. Le seuil de sensibilité analytique du test CT Aptima est de 2,5 IFU/mL.

Spécificité analytique

La spécificité analytique n'a pas été évaluée pour le Panther System. Consulter *Rendement analytique du Tigris DTS System pour Étude de l'équivalence de la spécificité analytique*.

Substances interférentes

Les substances interférentes n'ont pas été testées sur le Panther System. Consulter *Rendement analytique du Tigris DTS System pour Étude de l'équivalence des substances interférentes*.

Études de contamination par transfert pour le Panther System

Une étude analytique sur des séries multiples a été réalisée à l'aide de panels enrichis sur six Panther Systems. La contamination de transfert a été évaluée en répartissant des échantillons avec un titre élevé de CT (environ 20 % du total) parmi des échantillons négatifs. Les séries comprenaient des regroupements d'échantillons fortement positifs et des regroupements d'échantillons négatifs ainsi que des échantillons fortement positifs isolés répartis dans la série. Les échantillons à titre élevé ont été préparés par l'ajout de rRNA de CT dans du STM pour obtenir une concentration finale de 5×10^5 fg rRNA/réaction (conc. équivalente de rRNA à $2,5 \times 10^5$ IFU/mL). Les analyses ont été effectuées pour 5 séries sur chacun des six Panther Systems, soit un total de 5 878 échantillons négatifs. Le taux de contamination de transfert global était de 0,19 % avec un intervalle de confiance de 95 % de 0,10 à 0,33 %.

Bibliographie

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.** 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. **51** (RR-15).
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2017. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2016*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. September.
6. **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.
7. **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 APTIMA Combo 2 Assay when testing for inhibitors. *J. Clin. Microbiol.* **41**:778-782.
8. **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.
9. **CUMITECH 31.** Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory.- ASM PRESS, FEBRUARY 1997.
10. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. *Journal of Pediatrics* **95**:28-32.
11. **Gaydos, C. A., T.C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the APTIMA Combo 2 Assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. *J. Clin. Microbiol.* **41**:304-309.
12. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, 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.
13. **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.
14. **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.
15. **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.
16. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
17. **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.
18. **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).
19. **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.
20. **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.
21. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
22. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
23. **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.
24. **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.
25. **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.

26. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. *J. Clin. Microbiol.* **34**:3072-3074.
27. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. *J. Clin. Microbiol.* **3**:74-80.
28. **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.



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



Service clients : +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Service technique : +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Pour obtenir des coordonnées supplémentaires, visitez le site www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep, Tigris, et TMA ainsi que les logos associés sont des marques commerciales et/ou des marques déposées d'Hologic, Inc. et/ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

ependorf (stylisé) et REPEATER sont des marques de commerce de Eppendorf AG.

KOVA-TROL est une marque de commerce de Hycor Biomedical, Inc.

RAININ est une marque de commerce de Rainin Instrument, LLC.

TECAN et FREEDOM EVO sont des marques de commerce de Tecan Group AG.

Toutes les autres marques commerciales qui peuvent apparaître dans ce notice sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.

Ce produit peut être couvert par un ou plusieurs brevets américains identifiés à l'adresse www.hologic.com/patents.

© 2000–2017 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

502485FR Rev.002

2017-08