

Test Aptima™ Chlamydia trachomatis

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Pouze pro export z USA.

Všeobecné informace	2
Určené použití	2
Souhrn a vysvětlení testu	2
Principy metody	3
Varování a bezpečnostní opatření	3
Požadavky na skladování reagensů a manipulaci s nimi	6
Odběr a uchování vzorku	7
Interpretace testu — Kontrola kvality / Výsledky pacienta	34
Omezení	37
Výsledky klinické studie	39
Očekávané hodnoty systémů DTS	40
Klinická výkonnost systémů DTS	43
Analytická výkonnost DTS systémů	56
Shoda klinických vzorků systému Tigris DTS	60
Analytická výkonnost systému Tigris DTS	63
Analytická výkonnost systému Panther	66
Literatura	69

DTS™ Systems

Systémy DTS	9
Dodávané materiály a reagensie	9
Potřebný materiál, který se dodává zvlášť	10
Volitelné materiály	12
Testovací postup systémů DTS	12
Poznámky k postupu	17

Tigris™ DTS™

Systém Tigris DTS	21
Dodávané materiály a reagensie	21
Potřebný materiál, který se dodává zvlášť	23
Volitelné materiály	24
Testovací postup systému Tigris DTS	24
Poznámky k postupu	26

Panther™

Systém Panther	28
Dodávané materiály a reagensie	28
Potřebný materiál, který se dodává zvlášť	29
Volitelné materiály	30
Testovací postup systému Panther	30
Poznámky k postupu	33

Všeobecné informace

Určené použití

Test Aptima™ *Chlamydia trachomatis* je cílový amplifikační test sondy nukleové kyseliny, který využívá zachycení cíle pro in vitro kvalitativní detekci ribozomální RNA (rRNA) *Chlamydia trachomatis* (CT) při diagnostice chlamydiových urogenitálních onemocnění pomocí systému Tigris DTS nebo Panther nebo pomocí poloautomatických zařízení systémů DTS dle specifikací. V testu lze testovat následující vzorky od symptomatických jedinců: zdravotníkem odebrané endocervikální a vaginální výtěry, mužské uretrální výtěry a vzorky moči mužů a žen. V testu lze testovat následující vzorky od asymptomatických jedinců: zdravotníkem odebrané endocervikální a vaginální výtěry, mužské uretrální vzorky, pacientkou odebrané vaginální výtěry¹ a vzorky moči mužů a žen. Test je také určen pro použití při testování gynekologických vzorků od symptomatických i asymptomatických pacientek. Tyto cervikální vzorky odebrané do lahviček s roztokem PreservCyt™ lze testovat buď před zpracováním Pap testu nebo po něm. Testování vzorků po zpracování v Pap testu je omezeno pouze na vzorky zpracované v systému ThinPrep™ 2000.

¹Vaginální výtěry odebrané pacientkou jsou jednou z možností skríningu žen, pokud není jinak indikováno pánevní vyšetření. Odběrová souprava pro vaginální výtěry není určena pro domácí použití.

Souhrn a vysvětlení testu

Infekce *Chlamydia trachomatis* je jedna z nejčastěji se vyskytujících pohlavně přenosných infekcí na celém světě. Pouze ve Spojených státech bylo v roce 2010 Středisku pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) hlášeno 1 307 893 nových případů infekce CT (426,0 případů na populaci 100 000 jedinců) (5).

Chlamydie jsou nepohyblivé, gramnegativní, obligátně intracelulární bakterie. Kmeny CT tvoří patnáct sérovarů (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 a L3), které mohou způsobovat onemocnění u člověka (29). Sérovary D až K jsou hlavní příčinou genitálních chlamydiových infekcí u mužů a žen (21). *C. trachomatis* může způsobovat negonokokovou uretritidu, epididymitidu, proktitidu, cervicitidu, akutní salpingitidu a pánevní zánětlivé onemocnění (PID) (3, 13, 23, 24). Infekce *C. trachomatis* jsou často asymptomatické u mužů i u žen. Děti narozené infikovaným matkám jsou vystaveny významně vyššímu riziku inkluzní konjunktivitidy a chlamydiové pneumonie (1, 10, 22).

Historicky se v klinické laboratorní práci pro detekci CT používalo několik metod, mezi něž patří buněčná kultivace, přímé testování fluorescenčních protilátek a enzymová imunoanalýza. Novější metody pro detekci CT zahrnují přímou analýzu DNA sondy a amplifikační testy nukleové kyseliny (nucleic acid amplification test - NAAT). Buněčná kultivace byla kdysi považována za „zlatý standard“ pro detekci CT. Kultivace je poměrně specifická, ale nedávné publikace ukázaly, že testy NAAT mají vyšší klinickou citlivost než kultivace (2, 8, 14, 25). Vzhledem k nižší klinické citlivosti a variabilní výkonnosti mezi laboratořemi byla kultivace nahrazena v mnoha laboratořích přímou DNA sondou a testy NAAT.

První generace testů NAAT pro CT má technologické problémy, které způsobují jejich omezenou výkonnost. Tyto problémy zahrnují těžkopádné zpracování a inhibici vzorku, které mohou způsobovat falešně negativní výsledky (6, 12, 15, 20, 26, 28). Test Aptima *Chlamydia trachomatis* (Aptima CT) je druhou generací NAAT, která využívá technologie zachycení cíle, transkripčně zprostředkovanou amplifikaci (Transcription-Mediated Amplification - TMA™) a test hybridizační ochrany (Hybridization Protection Assay - HPA) pro zjednodušené zpracování vzorku, amplifikaci cílové rRNA a detekci amplikonu. Studie srovnávající

výkonnost a inhibici vzorku různých amplifikačních systémů prokázaly přínos technologií zachycení cíle, TMA a HPA (7, 11).

V pokynech CDC z roku 2002 pro screening infekcí *Chlamydia trachomatis* a *Neisseria gonorrhoeae* doporučuje několik možností následných kontrol v případě pozitivního screeningu „pokud lze očekávat nízkou pozitivní prediktivní hodnotu nebo pokud by falešně pozitivní výsledek měl vážné psychosociální nebo právní důsledky“ (4). Jednou z těchto možností dalšího testování může být jiný test amplifikace nukleové kyseliny schválený Úřadem pro potraviny a léky FDA, ve kterém se používá jiná cílová sekvence nukleové kyseliny než v původním testu. Test Aptima CT se zaměřuje na jiné cílové sekvence nukleové kyseliny než ostatní testy NAAT na *C. trachomatis*, včetně testu Aptima Combo 2™.

Principy metody

Test Aptima CT je kombinací technologií zachycení cíle, transkripčně zprostředkované amplifikace (TMA) a testu hybridizační ochrany (HPA).

Vzorky jsou odebrány a přeneseny do příslušných přepravních zkumavek. Přepravní roztok v těchto zkumavkách uvolňuje cíl rRNA a chrání jej před degradací během uchovávání. Když se v laboratoři provádí test Aptima CT, molekula cílové rRNA je ze vzorků izolována pomocí záchytného oligomeru metodou zachycení cíle, která využívá magnetické mikročástice. Záchytný oligomer obsahuje sekvenci, která je komplementární ke specifické oblasti cílových molekul, a také řetězce deoxyadenosinových zbytků. Během hybridizačního kroku se sekvencně specifická oblast záchytného oligomeru váže na specifickou oblast cílové molekuly. Komplex záchytného oligomeru a cíle je poté vychytáván z roztoku snížením teploty reakce na pokojovou teplotu. Toto snížení teploty umožňuje hybridizaci mezi deoxyadenosinovou oblastí na záchytném oligomeru a polydeoxythimidinovými molekulami, které jsou kovalentně připojeny k magnetickým částicím. Mikročástice, včetně zachycené cílové molekuly, která je na ně navázaná, jsou zataženy do strany reakční nádoby pomocí magnetů a supernatant se odsaje. Částice se promyjí, aby se odstranila reziduální matrice vzorku, která může obsahovat inhibitory amplifikační reakce. Po dokončení kroků zachycení cíle jsou vzorky připraveny k amplifikaci.

Testy amplifikace cíle jsou založeny na schopnosti komplementárních oligonukleotidových primerů specificky hybridizovat a umožnit enzymatickou amplifikaci řetězců cílové nukleové kyseliny. TMA reakce Hologic replikuje specifickou oblast 16S rRNA z CT pomocí intermediátorů RNA. Pro každou cílovou molekulu se používá unikátní sada primerů. Detekce sekvencí amplifikačního produktu rRNA (amplikonu) je dosaženo použitím hybridizace nukleové kyseliny. Jednořetězcová chemiluminiscenční sonda DNA, která je komplementární k oblasti cílového amplikonu, je označena molekulou acridinium esteru. Značené DNA sondy se kombinují s amplikonem za vzniku stabilních hybridů RNA:DNA. Selekční reagencie rozlišuje hybridizovanou od nehybridizované sondy a eliminuje vznik signálu z nehybridizované sondy. Během detekčního kroku je světlo vyzařované z označených hybridů RNA:DNA měřeno jako fotonové signály v luminometru a intenzita je hlášena jako relativní světelné jednotky (RLU).

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pouze pro odborné použití.

- C. Další specifická varování, bezpečnostní opatření a postupy kontroly kontaminace pro systém Tigris DTS naleznete v *Návodu k obsluze systému Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)*.
- D. Další specifická varování, bezpečnostní opatření a postupy kontroly kontaminace pro systém Panther naleznete v *Návodu k obsluze systému Panther (Panther System Operator's Manual)*.

Související s laboratoří

- E. Používejte pouze dodávané nebo specifikované jednorázové laboratorní materiály.
- F. Používejte rutinní laboratorní bezpečnostní opatření. V určených pracovních prostorech nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensy soupravy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranu očí a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a s reagensy soupravy si důkladně umyjte ruce.
- G. **Varování: Dráždivé a leptavé:** Zamezte styku reagensů Auto Detect 1 a Auto Detect 2 s kůží, očima a sliznicemi. Pokud se tyto kapaliny dostanou do styku s kůží nebo očima, omyjte postiženou oblast vodou. Dojde-li k rozlití těchto kapalin, zředte rozlité kapaliny vodou a pak je vytřete dosucha.
- H. Pracovní povrchy, pipety a jiné vybavení musí být pravidelně dekontaminovány pomocí 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztoku chlomanu sodného.

Specifické pro systémy DTS

- I. Důrazně se doporučuje použití samostatné oblasti pro HPA, aby se minimalizovala kontaminace amplikonu v testu. Tato vyhrazená oblast se musí nacházet mimo oblast přípravy reagensie, zachycení cíle a amplifikace.
- J. Chcete-li zabránit kontaminaci laboratorní oblasti amplikonem, musí být laboratorní oblast zorganizována v jednosměrném průběhu práce: od přípravy reagensie k HPA. Vzorky, zařízení a reagensie se nesmí vracet do oblasti, kde byl proveden předchozí krok. Také personál se nesmí pohybovat zpět do předchozí pracovní oblasti bez řádných opatření bránících kontaminaci.

Související se vzorkem

- K. Tato metoda byla testována pouze s použitím endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské uretry, tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt, vzorků z vaginálních výtěrů a vzorků moči žen a mužů. Výkonnost testu s jinými vzorky, než jsou uvedeny v části Odběr a uchování vzorku nebyla hodnocena.
Laboratoře mohou schválit jiné odběrové prostředky (16, 18).
- L. Data použitelnosti uvedená na odběrových soupravách se vztahují na místo odběru a nikoliv na testovací zařízení. Vzorky odebrané kdykoliv před datem použitelnosti odběrové soupravy a přepravované a uchovávané v souladu s příbalovou informací, jsou platné pro testování, dokonce i v případě, že uplynula doba použitelnosti na odběrové zkumavce.
- M. Roztok PreservCyt byl schválen jako alternativní médium pro testování pomocí testu Aptima CT. Tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt zpracované pomocí procesoru

ThinPrep 3000 nebo jiných přístrojů, nebyly hodnoceny pro testování přítomnosti *Chlamydia trachomatis* testem Aptima CT.

- N. Po přidání moči musí být hladina kapaliny v přepravní zkumavce pro vzorek moči mezi dvěma černými indikačními linkami na štítku zkumavky. Jinak musí být vzorky odmítnuty.
- O. Při přepravě vzorků dodržujte správné podmínky uchovávání, aby byla zajištěna integrita vzorku. Stabilita vzorku nebyla hodnocena za jiných přepravních podmínek než těch, které jsou doporučeny.
- P. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření. Metody správné manipulace a likvidace musí stanovit ředitel laboratoře. Tento diagnostický postup může provádět pouze personál adekvátně vyškolený pro manipulaci s infekčními materiály.
- Q. Během manipulace se vzorkem zamezte zkřížené kontaminaci. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké hladiny mikroorganismů. Ujistěte se, že nádoby na vzorky nejsou ve vzájemném kontaktu a použité materiály zlikvidujte, aniž byste je přenášeli nad otevřenými nádobami. Vyměňte si rukavice, pokud se dostanou do styku se vzorkem.
- R. Pokud laboratoř obdrží přepravní zkumavku, v níž není žádná odběrová tyčinka, jsou v ní dvě tyčinky, čisticí tyčinka nebo tyčinka, kterou nedodává společnost Hologic, je třeba vzorek odmítnout. Před odmítnutím přepravní zkumavky pro výtěr bez tyčinky si ověřte, že nejde o zkumavku Aptima pro přenos vzorků, protože tato zkumavka nebude obsahovat tyčinku.
- S. U tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt proveďte odběr dle pokynů výrobce. Alikvoty následně odebrané z lahvičky PreservCyt pro testování testem Aptima CT musí být zpracovány pouze pomocí soupravy Aptima pro přenos vzorků.
- T. Při propíchnutí může za určitých podmínek dojít k úniku tekutiny z uzávěrů přepravních zkumavek Aptima. Dodržujte pokyny uvedené v příslušné části *Testovací postup*, aby k tomuto problému nedošlo.

Související s testem

- U. Výkonnost testu vaginálních výtěrů nebyla hodnocena u těhotných žen.
- V. Výkonnost endocervikálních a vaginálních výtěrů, výtěrů z mužské močové trubice, vzorků moči mužů a žen a tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt nebyla hodnocena u dospívajících jedinců mladších 16 let.
- W. Nepoužívejte tuto soupravu po uplynutí doby použitelnosti.
- X. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagentie testu ze souprav s různými čísly šarží. Kontroly a kapaliny Aptima používané při testu mohou mít rozdílné číslo šarže.

Specifické pro systémy DTS

- Y. Je nutné použít špičky s hydrofobními zátkami. Pro použití v tomto testu musí být vyhrazeny nejméně dva opakovací pipety: jeden pro použití v krocích zachycení cíle a amplifikace a druhý pro použití v krocích HPA. Pro použití v tomto testu musí být vyhrazeny dva mikropipety: jeden pro použití při přenosu vzorků a jeden pro použití při přípravě reagentií. Všechny pipety se musí pravidelně čistit podle návodu v části *Testovací postup systémů DTS*, odstavec *Poznámky k postupu*.

- Z. Při použití opakovacích pipetorů pro přidání reagensie se špičkou pipety nedotýkejte zkumavky, abyste zabránili přenosu z jedné zkumavky do druhé.
- AA. Pro dosažení přesných výsledků testu je nutné adekvátní míchání. Podrobnosti viz: *Testovací postup systémů DTS*, odstavec *Poznámky k postupu*.
- AB. Pro zachycení cíle, amplifikaci a HPA kroky testu musí být vyhrazeny samostatné vodní lázně.
- AC. Reprodukovatelnost testu byla stanovena s použitím přepravního média na výtěry označeného rRNA. Reprodukovatelnost při testování výtěru a vzorků moči obsahujících cílový organismus nebyla stanovena.
- AD. Uzavírací karty je třeba vyhodit do odpadního kontejneru okamžitě po vyjmutí z reakčních zkumavek. Používejte vždy nové uzavírací karty, nikdy nepoužívejte znovu karty z předcházejícího kroku. Uzavírací karty musí být pevně připevněny k horní části všech reakčních zkumavek.

Požadavky na skladování reagensií a manipulaci s nimi

Poznámka: Informace o H-větách a P-větách, které mohou být spojeny s reagensiemi, naleznete v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologic.com/sds.

- A. Následující reagensie jsou stabilní při uchovávání při teplotě 2 °C až 8 °C (v chladničce):
Amplifikační reagensie Aptima CT
Enzymatická reagensie Aptima
Reagensie sondy Aptima CT
Reagensie B pro zachycení cíle Aptima
Pozitivní kontrola CT/negativní kontrola GC Aptima
Pozitivní kontrola GC/negativní kontrola CT Aptima
- B. Následující reagensie jsou stabilní při uchovávání při teplotě 2 °C až 30 °C:
Amplifikační rekonstituční roztok Aptima CT
Enzymatický rekonstituční roztok Aptima
Rekonstituční roztok sondy Aptima CT
Selekční reagensie Aptima
- C. Následující reagensie jsou stabilní při uchovávání při teplotě 15 °C až 30 °C (pokojové teplotě):
Reagensie pro zachycení cíle Aptima CT
Promývací roztok Aptima
Pufr Aptima pro deaktivální kapalinu
Olejová reagensie Aptima
- D. Pracovní reagensie pro zachycení cíle (Working Target Capture Reagent - wTCR) je stabilní po dobu 60 dnů, pokud je uchovávána při teplotě 15 °C až 30 °C. Neukládejte do chladničky.
- E. Po rekonstituci jsou enzymatické reagensie, amplifikační reagensie CT a reagensie CT sondy stabilní po dobu 60 dnů, pokud jsou uchovávány při teplotě 2 °C až 8 °C.

- F. Zlikvidujte veškeré nepoužité rekonstituované reagentie a wTCR CT po 60 dnech nebo po uplynutí doby použitelnosti hlavní šarže reagentie, dle toho, co nastane dříve.
- G. Kontroly jsou stabilní do data uvedeného na zkumavkách.
- H. Reagentie v lahvičkách pro 100 testů skladované uvnitř systému Tigris DTS mají stabilitu uvnitř po dobu 96 hodin.
- I. Reagentie skladované uvnitř systému Panther mají stabilitu uvnitř po dobu 72 hodin.
- J. Reagentie CT sondy a rekonstituovaná reagentie CT sondy jsou fotosenzitivní. Uchovávejte reagentie chráněné před světlem.
- K. Při zahřátí na pokojovou teplotu se mohou některé kontrolní zkumavky zakalit nebo mohou obsahovat precipitáty. Zákal nebo precipitace u kontrol neovlivňují výkonnost dané kontroly. Kontroly je možné použít bez ohledu na to, zda jsou čiré nebo zakalené/s precipitátem. Pokud je třeba čirých kontrol, je možné zrychlit jejich rozpuštění inkubací při horní hranici rozmezí pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
- L. **Reagentie nezmrazujte.**

Odběr a uchování vzorku

Test Aptima CT je určen ke zjištění přítomnosti CT v zdravotníkem odebraných endocervikálních, vaginálních a mužských uretrálních výtěrech, pacientkou odebraných vaginálních výtěrech, vzorcích moči žen a mužů a tekutých Pap vzorcích v roztoku PreservCyt. Výkonnost testu s jinými vzorky, než byly odebrány pomocí následujících odběrových souprav, nebyla hodnocena:

- Odběrová souprava tyčinek Aptima Unisex pro vzorky endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské močové trubice
- Odběrová souprava Aptima pro vzorky moči mužů a žen
- Souprava pro odběr stěrů Aptima Multitest
- Souprava Aptima pro přenos vzorků (k použití s gynekologickými vzorky odebranými do roztoku PreservCyt)

A. Pokyny pro odběr:

Viz příbalová informace příslušné odběrové soupravy, kde jsou uvedeny pokyny pro odběr.

B. Přeprava a uchování vzorku před testováním:

1. Výtěry:

- a. Po odběru výtěr přepravujte a uchovávejte v přepravní zkumavce na výtěry při teplotě 2 °C až 30 °C do doby, než bude testován. Vzorky musí být testovány pomocí testu Aptima CT do 60 dnů od odběru. Pokud je nutné delší uchování, zmrazte po odběru na teplotu -20 °C až -70 °C po dobu maximálně 12 měsíců od odběru (viz *Studie stability vzorků*).

2. Vzorky moči

- a. Vzorky moči, které jsou stále v primární sběrné nádobě, musí být přepravovány do laboratoře při teplotě 2 °C až 30 °C. Přeneste vzorek moči do přepravní zkumavky Aptima na vzorky moči do 24 hodin od odběru. Uchovávejte při teplotě 2 °C až 30 °C a testujte do 30 dnů od odběru.

- b. Po odběru přepravujte zpracované vzorky moči v přepravní zkumavce Aptima na vzorky moči při teplotě 2 °C až 30 °C a uchovávejte při teplotě 2 °C až 30 °C, dokud nebudou testovány. Zpracované vzorky moči musí být testovány pomocí testu Aptima CT do 30 dnů od odběru. Pokud je nutné delší uchování, zmrazte po odběru na teplotu -20 °C až -70 °C po dobu maximálně 12 měsíců od odběru (viz *Studie stability vzorků*).
3. Tekutý Pap vzorek v roztoku PreservCyt:
 - a. Tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt určené pro CT testování musí být zpracovány pro cytologii nebo přeneseny do zkumavky Aptima pro přenos vzorků do 30 dnů od odběru, pokud jsou uchovány při teplotě 2 °C až 30 °C (viz *Studie stability vzorků*).
 - b. Pokud bude použit postup odebrání alikvotních podílů ThinPrep, přečtěte si *Dodatek k návodu k obsluze procesoru ThinPrep 2000 nebo ThinPrep 3000 (ThinPrep 2000, ThinPrep 3000 Processor Operator's Manual — Addendum)*, kde jsou uvedeny pokyny pro odebrání alikvotních podílů. Přeneste 1 mL alikvotního podílu do zkumavky Aptima pro přenos vzorků dle pokynů v příbalové informaci k soupravě Aptima pro přenos vzorků.
 - c. Pokud testujete vzorek po zpracování s použitím procesoru ThinPrep 2000, zpracujte tekutý Pap vzorek v roztoku PreservCyt v souladu s *návodem k obsluze procesoru ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* a příbalovou informací k soupravě Aptima pro přenos vzorků. Přeneste 1 mL kapaliny zbývající v lahvičce roztoku PreservCyt do zkumavky Aptima pro přenos vzorků dle pokynů v příbalové informaci k soupravě Aptima pro přenos vzorků.
 - d. Jakmile je tekutý Pap vzorek v roztoku PreservCyt přenesen do zkumavky Aptima pro přenos vzorků, musí být vzorek testován pomocí testu Aptima CT do 30 dnů, pokud je uchován při teplotě 2 °C až 8 °C nebo 14 dnů při teplotě 15 °C až 30 °C. Pokud je potřebné delší uchování, zmrazte vzorek při teplotě -20 °C až -70 °C na dobu maximálně 12 měsíců po přenosu (viz *Studie stability vzorků*).
- C. Uchování vzorků po testování:
 1. Vzorky musí být po proběhnutí testu uloženy vertikálně ve stojanu.
 2. Přepravní zkumavky na vzorek musí být zakryty novou čistou plastovou nebo fóliovou bariérou.
 3. Pokud je třeba testované vzorky zmrazit nebo přepravovat, odstraňte propichovací uzávěr a na přepravní zkumavky umístěte nový nepropichovací nebo propichovací uzávěr. Pokud je třeba vzorky odeslat pro testování do jiného zařízení, je nutno dodržovat doporučené teploty. Před odstraněním uzávěru z dříve testovaných a znovu uzavřených vzorků musí být přepravní zkumavky odstředěny po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle (Relative Centrifugal Force – RCF) 420, aby se veškerá kapalina dostala na dno zkumavky. **Zabraňte rozstříkovaní a zkřížené kontaminaci.**

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

Systémy DTS

Reagencie testu Aptima CT pro systémy DTS jsou uvedeny níže. Vedle názvu reagentie jsou také uvedeny identifikační symboly reagentie.

Dodávané materiály a reagentie

Poznámka: Informace o H-větvích a P-větvích, které mohou být spojeny s reagentiemi, naleznete v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologic.com/sds.

Souprava testu Aptima Chlamydia trachomatis, 100 testů (2 krabice)
(kat. č. 301088)

Chladicí box pro test Aptima Chlamydia trachomatis (krabice 1 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Složka	Množství
A	Amplifikační reagentie Aptima CT <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % objemové látky.</i>	1 lahvička
E	Enzymatická reagentie Aptima <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v HEPES pufovaném roztoku obsahujícím < 10 % objemové látky.</i>	1 lahvička
P	Reagentie sondy Aptima CT <i>Neinfekční chemiluminiscenční DNA sondy vysušené v sukcinátem pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
TCR-B	Reagentie B pro zachycení cíle Aptima <i>Neinfekční nukleová kyselina v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 x 0,35 mL
PCT/NGC	Pozitivní kontrola CT/negativní kontrola GC Aptima <i>Neinfekční nukleová kyselina CT v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu. Každý vzorek o objemu 400 µL obsahuje odhadovaný ekvivalent rRNA pro 1 CT IFU (5 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL
PGC/NCT	Pozitivní kontrola GC/negativní kontrola CT Aptima <i>Neinfekční nukleová kyselina GC v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu. Každý vzorek o objemu 400 µL obsahuje odhadovaný ekvivalent rRNA pro 50 GC buněk (250 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL

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

Součástí chladicího boxu jsou také následující položky (úložný podnos):
(po přijetí skladujte při teplotě od 2 °C do 30 °C)

Symbol	Složka	Množství
AR	Amplifikační rekonstituční roztok Aptima CT <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 9,3 mL
ER	Enzymatický rekonstituční roztok Aptima <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 3,3 mL
PR	Rekonstituční roztok sondy Aptima CT <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 x 12,4 mL
S	Selekční reagentie Aptima <i>600 mM boritanem pufovaný roztok obsahující surfaktant.</i>	1 x 31 mL
	Rekonstituční objímky	3
	Uzavírací karty	1 balení

Box s pokojovou teplotou pro test Aptima Chlamydia trachomatis (krabice 2 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Složka	Množství
TCR	Reagentie pro zachycení cíle Aptima CT <i>Pufovaný roztok solí obsahující solidní fázi a záchytné oligomery.</i>	1 x 22 mL
W	Promývací roztok Aptima <i>10 mM HEPES pufovaný roztok obsahující < 2 % detergentu.</i>	1 x 402 mL
DF	Pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny <i>800 mM bikarbonátový pufovaný roztok.</i>	1 x 402 mL
O	Olejevé reagentie Aptima <i>Silikonový olej</i>	1 x 24,6 mL

Potřebný materiál, který se dodává zvlášť

Poznámka: Materiály dostupné u Hologic mají uvedeno katalogové číslo, není-li specifikováno jinak.

	Kat. č.
Luminometr Leader HC+	104747-01
Systém zachycení cíle Hologic (Target Capture System - TCS)	104555
Inkubátory a vortexové třepačky:	
2 vortexové multitřepačky	102160G
3 oběhové vodní lázně (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	104586
3 vložky do vodní lázně	104627
NEBO:	
2 třepačky se suchým teplem SB100	105524
Mohou být nutné další SB100 zařízení, pokud se objem testů zvýší	
Souprava Aptima Auto Detect	301048

	<u>Kat. č.</u>
2 opakovací pipetory eppendorf Repeater Plus	105725
2 pipetory, 1 000 μ L RAININ PR1000	901715
eppendorf pipetor, 20 μ L až 200 μ L	105726
Špičky pro opakovací pipetory, 2,5 mL	21-381-329
Špičky pro opakovací pipetory, 5,0 mL	21-381-330
Špičky pro opakovací pipetory, 25,0 mL	21-381-115
Špičky, typ P1000	105049
<i>Špička se speciálním průměrem dostupná pouze u Hologic</i>	
Pipetové špičky, 20 μ L až 200 μ L	705512 (Fisher)
Jednotky deseti zkumavek (Ten Tube Units - TTU)	TU0022
Kazety s deseti špičkami (Ten Tip Cassettes - TTC)	104578
Odběrová souprava tyčinek Aptima Unisex pro vzorky endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské močové trubice	301041
Odběrová souprava Aptima pro vzorky moči mužů a žen	301040
Přepravní zkumavky Aptima pro vzorky moči mužů a žen	105575
Souprava pro odběr stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Souprava Aptima pro přenos vzorků	301154C
Souprava Aptima pro přenos vzorků — potisknutelné	PRD-05110
Kalibrační standard SysCheck	301078
Bělidlo, 5 % až 7 % (0,7 M až 1,0 M) roztok chlomanu sodného	—
Standardní kontejnery na sběr moči, bez konzervačních látek	—
Plastový kontejner s velkým uzávěrem	—
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A

Volitelné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Souprava kontrol Aptima	301110
Kapaliny pro testy Aptima	302002C
<i>Promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivční kapalinu a olejová reagentie Aptima</i>	
Přídavek Hologic do bělidla	302101
<i>pro pravidelné čištění povrchů a zařízení</i>	
Výcvikový panel pro pohlavní choroby	102325
Špičky, 1 000 µL vodivé, detekující kapalinu	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4 obsahující	900932
<i>Zařízení DTS 800 Systems Aptima Combo 2 Podložka</i>	<i>105200</i>
<i>Nádržka na reagentie (40 mL čtvrtkový modul)</i>	<i>104765</i>
<i>Rozdělená nádržka na reagentie (19 mL x 2čtvrtkový modul)</i>	<i>104763</i>

Testovací postup systémů DTS

A. Příprava zařízení

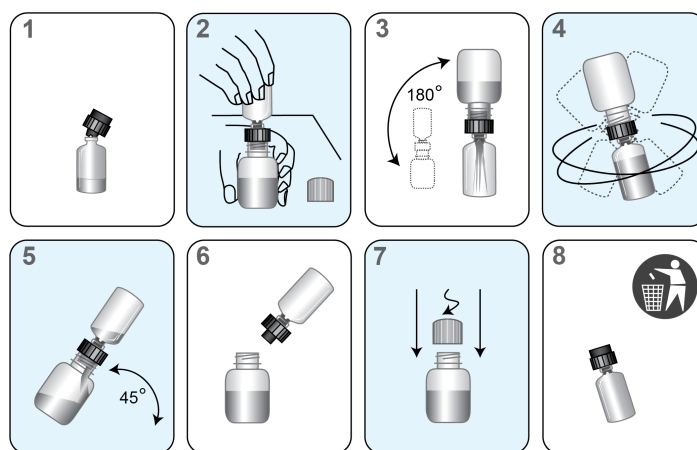
1. Nastavte jednu vodní lázeň na 62 °C ± 1 °C (pro zachycení cíle a hybridizaci primeru), druhou vodní lázeň na 42 °C ± 1 °C (pro amplifikaci) a třetí vodní lázeň na 62 °C ± 1 °C (pro HPA). Pokud používáte vortexovou třepačku se suchým teplem, SB100™, přečtěte si *aplikační list pro vortexovou třepačku se suchým teplem, (SB100 Aplikační list)*.
2. Před zahájením testu otřete pracovní povrchy a pipetory 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte v kontaktu s povrchy a pipetory po dobu minimálně 1 minuty a pak opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte pracovní plochu, na níž bude test proveden, čistým absorpčním laboratorním krytem na pracovní desky, který je potažen na spodní straně plastem.
3. Umístěte dostatečný počet kazet s deseti špičkami do systému pro zachycení cíle (TCS). Ujistěte se, že je promývací láhev TCS naplněna promývacím roztokem Aptima a že je aspirační potrubí připojeno k vakuovému čerpadlu. (Viz *Návod k obsluze systému pro zachycení cíle [Target Capture System Operator's Manual]*.)

B. Rekonstituce reagentie

Poznámka: Rekonstituce reagentie musí být provedena před zahájením přenosu vzorku.

1. Chcete-li rekonstituovat amplifikační reagentie CT, enzymatické reagentie a reagentie sondy CT, zkombinujte lahvičky lyofilizované reagentie s rekonstitučním roztokem. V případě uložení v chladničce nechte rekonstituční roztoky před použitím dosáhnout pokojové teploty.
 - a. Spárujte příslušný rekonstituční roztok s lyofilizovanou reagentií. Označení je barevně kódováno, a tak je zajištěno správné spárování.
 - b. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagentií a pevně zasuňte konec rekonstituční objímky s drážkou do otvoru v lahvičce (obrázek 1, krok 1).
 - c. Otevřete odpovídající lahvičku rekonstitučního roztoku a umístěte uzávěr na čistý zakrytý pracovní povrch.
 - d. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na pracovní desce, pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do láhve (obrázek 1, krok 2).

- e. Sestavenou láhev a lahvičku pomalu otáčejte. Nechte roztok vytéct z láhve do skleněné lahvičky (obrázek 1, krok 3).
- f. Jemně roztokem v lahvičce zakružte aby se promíchal. Při kroužení lahvičkou zamezte vzniku pěny (obrázek 1, krok 4).
- g. Počkejte, až se lyofilizovaná reagensie rozpustí v roztoku a pak převratte sestavenou láhev s lahvičkou ještě jednou nakloněním v úhlu 45°, aby se minimalizoval vznik pěny (obrázek 1, krok 5). Nechte veškerou kapalinu natéct zpět do láhve.
- h. Odstraňte rekonstituční objímku z láhve (obrázek 1, krok 6).
- i. Lahvičku znovu uzavřete. Zaznamenejte iniciály obsluhy a datum rekonstituce na štítku (obrázek 1, krok 7).
- j. Rekonstituční objímku a lahvičku zlikvidujte (obrázek 1, krok 8).



Obrázek 1. Rekonstituční proces v systémech DTS

2. Dříve rekonstituované reagensie CT sondy, amplifikační CT reagensie a enzymatické reagensie musí před zahájením testu dosáhnout pokojovou teplotu (15 °C až 30 °C). Pokud reagensie sondy obsahuje precipitát, který se při pokojové teplotě nerozpustí, zahřejte ho na 62 °C po dobu 1 až 2 minut. Po tomto zahřívacím kroku může být reagensie sondy použita dokonce i v případě, že v ní zůstává zbytek precipitátu. Po resuspenzi promíchejte jemným převrácením a dávejte pozor na to, abyste nevytvářeli pěnu.

Poznámka: Tento krok s převrácením musí být proveden, kdykoli je precipitát rozpouštěn, ať už zahříváním na 62 °C nebo ohříváním na pokojovou teplotu.

3. Připravte pracovní reagensii pro zachycení cíle CT (Working Target Capture Reagent CT - wTCR CT)
 - a. Přeneste 20 mL TCR CT do příslušné čisté a suché nádoby odpovídající velikosti.
 - b. Pomocí mikropipetoru přidejte 200 µL TCR-B do TCR CT.
 - c. Důkladně roztok promíchejte zakroužením.
 - d. Nádobu označte štítkem. Zaznamenejte iniciály obsluhy, datum přípravy a obě čísla šarží.

Poznámka: Pro menší počet reakcí (vzorky a kontroly) používejte pro výpočet objemů TCR CT a TCR-B následující:

$$\text{Objem TCR (mL)} = (\text{počet reakcí} + 5 \text{ dalších reakcí}) \times 0,1 \text{ mL}$$

$$\text{Objem TCR-B (mL)} = \text{objem TCR (mL)} / 100$$

C. Zachycení cíle

Opakovací pipetor používaný pro zachycení cíle a amplifikaci musí být vyhrazen pro použití pouze v těchto krocích. Další informace viz část *Varování a bezpečnostní opatření*.

Příprava stojanu

1. Před zpracováním nechte kontroly a vzorky dosáhnout pokojové teploty.
2. **Vzorky nemíchejte ve vortexové třepačce.**
3. Vizually zkontrolujte, že všechny zkumavky se vzorky splňují následující kritéria:
 - a. Přítomnost jediné modré odběrové tyčinky Aptima v přepravní zkumavce na vzorky od pacientů obou pohlaví.
 - b. Přítomnost jediného růžového odběrového tamponu Aptima v přepravní zkumavce pro vzorky z vaginálního stěru nebo pro vzorky z multitestu.
 - c. Konečný objem moči mezi černými ryskami na přepravní zkumavce pro vzorky moči.
 - d. Nepřítomnost odběrové tyčinky v přepravní zkumavce Aptima pro tekuté vzorky Pap v roztoku PreservCyt.
4. Zkontrolujte zkumavky se vzorky předtím, než je propíchnete:
 - a. Pokud zkumavka se vzorkem obsahuje bubliny v prostoru mezi tekutinou a uzávěrem, odstředte zkumavku po dobu 5 minut při 420 RCF, abyste bubliny odstranili.
 - b. Pokud má zkumavka se vzorkem menší objem, než je typicky pozorováno při dodržování odběrových pokynů, odstředte zkumavku po dobu 5 minut při 420 RCF, abyste zajistili, že v uzávěru není žádná kapalina.
 - c. Pokud hladina kapaliny ve zkumavce se vzorkem moči není mezi dvěma černými ryskami štítku, vzorek musí být zamítnut. Nepropichujte přeplněnou zkumavku.
 - d. Pokud zkumavka se vzorkem moči obsahuje precipitát, zahřívejte ji na teplotu 37 °C po dobu až 5 minut. V případě, že se precipitát znovu nerozpustí, vizuálně zkontrolujte, že precipitát nebrání dodání vzorku.

Poznámka: Pokud nedodržíte kroky 4a–4c, může to způsobit únik tekutiny z uzávěru zkumavky se vzorkem.

5. Pokud mají být testovány vzorky se standardními (nepropichovacími) uzávěry, musí být odstředěny po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle (RCF) 420, aby byla před odstraněním uzávěru veškerá kapalina na dně zkumavky. **Zabraňte rozstříkovaní a zkřížené kontaminaci.**
6. Do stojanu na jednotky deseti zkumavek (Ten Tube Units - TTU) umístěte dostatek jednotek TTU pro kontroly a vzorky.
7. Pokud je potřebný pracovní seznam, vytvořte ho v tento okamžik. Pokyny k vytvoření pracovního seznamu naleznete v *Návodu k obsluze softwaru pro test Aptima (Aptima Assay Software Operator's Manual)*.
8. Řádně promíchejte wTCR CT. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte 100 µL do každé reakční zkumavky.
9. **První reakční zkumavka testu musí obsahovat negativní kontrolu a druhá reakční zkumavka musí obsahovat pozitivní kontrolu.**
 - a. Štítek negativní kontroly pro test Aptima CT je modrozelený. Text na štítku označuje negativní kontrolu „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“. Štítek pozitivní kontroly pro test Aptima CT je růžový. Text na štítku označuje pozitivní kontrolu „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“.

- b. Držte zkumavku s negativní kontrolou (označenou modrozeleným štítkem) v jedné ruce nebo ji nechte na stojanu. Pomocí mikropipetoru propíchněte uzávěr a dávejte pozor, abyste špičkou mikropipetoru nenarazili do dna zkumavky. Přidejte 400 µL negativní kontroly (označené modrozeleným štítkem) do první reakční zkumavky. Stejným způsobem a novou pipetovací špičkou přidejte 400 µL pozitivní kontroly (označené růžovým štítkem) do druhé reakční zkumavky.
10. Pokračujte s přípravou stojanu přidáním 400 µL každého vzorku do zbývajících reakčních zkumavek. Používejte novou pipetovací špičku pro každý vzorek a kontrolu. Přijatelný objem vzorku nebo kontroly přidaný do reakční zkumavky je 400 µL ± 100 µL. Další informace viz část *Poznámky k postupu a Pipetování kontroly a vzorku*.

Zachycení cíle

Použití systému zachycení cíle Hologic je popsáno v *Návodu k obsluze systému zachycení cíle (Target Capture System Operator's Manual)*. Pokud používáte vortexovou třepačku se suchým teplem SB100, přečtěte si *aplikační list SB100*.

11. Uzavřete jednotky TTU uzavíracími kartami a stojanem jemně rukou zatřepete. **Nemíchejte ve vortexové třepačce.** Stojan inkubujte při teplotě 62 °C ± 1 °C ve vodní lázni po dobu 30 ± 5 minut.
12. Vyjměte stojan z vodní lázně a osušte spodní části zkumavek na absorpčním materiálu.
13. Ujistěte se, že jsou uzavírací karty pevně usazeny. Pokud je to nutné, vyměňte je za nové uzavírací karty a jednotky TTU řádně uzavřete.
14. Stojan míchejte po dobu 60 sekund ve vortexové multi-třepačce. Další informace viz část *Poznámky k postupu a Míchání ve vortexové třepačce*. Začněte s mícháním ve vortexové třepačce do 2 minut od vyjmutí stojanu z vodní lázně.
15. Neodstraňujte uzavírací karty a stojan inkubujte při pokojové teplotě po dobu 30 ± 5 minut.
16. Stojan umístěte na magnetickou základnu TCS na 5 až 10 minut.
17. Naplňte hadičky rozdělovací čerpací stanice načerpáním promývacího roztoku Aptima přes rozdělovací potrubí. Načerpejte dostatek kapaliny do systému, aby nebyly v hadičce přítomné žádné vzduchové bubliny a všech deset trysek dodávalo stabilní proud kapaliny.
18. Zapněte vakuové čerpadlo a odpojte aspirační potrubí na prvním konektoru mezi aspiračním potrubím a záchytnou láhví. Zkontrolujte, že měřidlo vakua splňuje specifikace zkoušky těsnosti.² Hodnotu získáte po 15 sekundách. Znovu připojte aspirační potrubí a zkontrolujte, že měřidlo vakua splňuje hodnoty specifikace vakua. Nechte vakuové čerpadlo zapnuté, až budou dokončeny kroky zachycení cíle a hadičky aspiračního potrubí budou suché.
19. Pevně připojte aspirační potrubí k první sadě špiček. Aspirujte veškerou kapalinu ponořením špiček do první jednotky TTU, dokud se špičky nedostanou do krátkého kontaktu se dny zkumavek. Nedržte špičky v kontaktu se dny zkumavek.
20. Po dokončení aspirace vysuňte špičky do jejich původní TTC kazety. Opakujte aspirační kroky pro zbývajících jednotky TTU a přitom používejte vyhrazenou špičku pro každý vzorek.
21. Umístěte rozdělovací potrubí nad každou TTU a za použití čerpadla rozdělovací stanice přidejte 1,0 mL promývacího roztoku Aptima do každé zkumavky TTU.
22. Uzavřete zkumavky uzavírací kartou a vyjměte stojan z magnetické základny TCS. Jednou stojan promíchejte ve vortexové multi-třepačce. Podrobnosti viz část *Poznámky k postupu a Míchání ve vortexové třepačce*.

² Viz list specifikací vakua pro systém zachycení cíle na zadní straně *Návodu k obsluze systému zachycení cíle (Target Capture System Operator's Manual)* nebo se obraťte na technickou podporu.

23. Stojan umístěte na magnetickou základnu TCS na 5 až 10 minut.
24. Nasajte všechny roztoky, jak je popsáno v krocích 19 a 20.
25. Po poslední aspiraci vyjměte stojan z magnetické základny TCS a vizuálně zkontrolujte zkumavky, abyste se ujistili, že byla aspirována veškerá kapalina a že všechny zkumavky obsahují pelety magnetických částic. Pokud je viditelná jakákoliv kapalina, umístěte stojan zpět na magnetickou základnu TCS na 2 minuty a opakujte aspiraci pro tuto jednotku TTU pomocí stejných špiček použitých předtím pro každý vzorek.

Poznámka: Pokud bude peleta magnetické částice viditelná po dokončení aspirace, zkumavku je možné akceptovat. Pokud nebude viditelná žádná peleta, vzorek je nutno testovat znovu. Pokud při následujícím cyklu stejný vzorek neobsahuje peletu magnetické částice v dalším kroku, může to znamenat problém se vzorkem. V takovém případě se doporučuje nový odběr vzorku.

D. Amplifikace

Pokud používáte vortexovou třepačku se suchým teplem SB100, přečtěte si *aplikační list SB100*.

1. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte 75 µL rekonstituované amplifikační reagentie CT do každé reakční zkumavky. Všechny reakční směsi ve stojanu by měly být nyní červené.
2. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte 200 µL olejové reagentie do každé reakční zkumavky.
3. Uzavřete zkumavky uzavírací kartou a míchejte ve vortexové multi-třepačce.
4. Stojan inkubujte ve vodní lázni při teplotě 62 °C ± 1 °C po dobu 10 ± 5 minut.
5. Stojan přeneste do vodní lázně o teplotě 42 °C ± 1 °C a inkubujte po dobu 5 minut ± 2 minuty.
6. Stojan nechte ve vodní lázni a opatrně odstraňte uzavírací kartu, a za použití opakovacího pipetoru přidejte 25 µL rekonstituované enzymatické reagentie do každé reakční zkumavky. Všechny reakční směsi by měly být nyní oranžové.
7. Okamžitě uzavřete všechny zkumavky čerstvou uzavírací kartou, vyjměte stojan z vodní lázně a míchejte reakční zkumavky jemným třepáním stojanu v ruce.
8. Stojan inkubujte ve vodní lázni při teplotě 42 °C ± 1 °C po dobu 60 ± 15 minut.

E. Test hybridizační ochrany (Hybridization Protection Assay - HPA)

Pokud používáte vortexovou třepačku se suchým teplem SB100, přečtěte si *aplikační list SB100*.

Opakovací pipetor používaný v hybridizačních a selekčních krocích musí být vyhrazen pro použití pouze v těchto krocích. Viz *Varování a bezpečnostní opatření*.

1. Hybridizace
 - a. Vyjměte stojan z vodní lázně a přeneste do oblasti HPA. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte 100 µL rekonstituované reagentie CT sondy do každé reakční zkumavky. Všechny reakční směsi by měly být nyní žluté.
 - b. Uzavřete zkumavky uzavírací kartou a míchejte stojan ve vortexové multi-třepačce.
 - c. Stojan inkubujte při teplotě 62 °C ± 1 °C ve vodní lázni po dobu 20 ± 5 minut.
 - d. Vyjměte stojan z vodní lázně a inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut ± 1 minuta.

2. Selekce

- a. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte 250 µL selekční reagentie do každé reakční zkumavky. Všechny reakční směsi by měly být nyní červené.
- b. Uzavřete zkumavky uzavírací kartou, míchejte stojan ve vortexové třepačce po dobu 10 sekund nebo dokud nebude barva uniformní a stojan inkubujte ve vodní lázni při teplotě 62 °C ± 1 °C po dobu 10 minut ± 1 minuta.
- c. Vyjměte stojan z vodní lázně.

3. Detekce

Detekce musí být provedena při teplotě 18 °C až 28 °C.

- a. Stojan inkubujte při teplotě 18 °C až 28 °C po dobu 15 minut ± 3 minuty.

Poznámka: Toto teplotní rozmezí je kritické pro výkonnost testu.

- b. Pro použití luminometru Leader HC+ a softwaru testu Aptima si přečtěte *Návod k obsluze luminometru Leader HC+ (Leader HC+ Luminometer Operator's Manual)* a *Návod k obsluze softwaru pro test Aptima (Aptima Assay Software Operator's Manual)*.
- c. Ujistěte se, že je přítomen dostatečný objem reagentů Auto Detect 1 a 2 pro dokončení testů.
- d. Připravte luminometr Leader HC+ umístěním jedné prázdné jednotky TTU do pozice kazety číslo 1 a proveďte **Promývací** (Wash) protokol.
- e. Zasuňte jednotky TTU do luminometru.
- f. Přihlaste se do počítače. Klepněte na **New Run** (Nový cyklus), zvolte **protokol testu Aptima CT** a zadejte počet zkumavek (kontroly a vzorky). Klepněte na **Next** (Další), abyste cyklus zahájili.

Poznámka: Cyklus musí být dokončen do 2 hodin od konce volby inkubačního kroku.

- g. Připravte deaktivální roztok smícháním stejných objemů 5 % až 7 % (0,7 M až 1,0 M) chlornanu sodného a pufru pro deaktivální kapalinu Aptima v plastovém kontejneru s velkým uzávěrem. Plastový kontejner označte štítkem a na štítek napište dobu použitelnosti. Deaktivální kapalina je stabilní po dobu 4 týdnů při pokojové teplotě. Zlikvidujte deaktivální kapalinu za 4 týdny nebo po deaktivaci 100 zpracovaných vzorků (dle toho, co nastane dříve).
- h. Po vyjmutí použitých jednotek TTU z luminometru umístěte jednotky TTU do kontejneru s deaktivální kapalinou. Nechte jednotky TTU v kontejneru po dobu 15 minut předtím, než je zlikvidujete. Metody správné manipulace a likvidace musí stanovit ředitel laboratoře.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

Pro správnou funkci se softwarem testu Aptima musí být negativní kontrola pro CT, která je označena „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“, v první pozici první jednotky TTU. Pozitivní kontrola pro CT, která je označena „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“, musí být v druhé pozici první jednotky TTU. Umístění do špatné pozice způsobí chybu cyklu. Jakékoliv další kontroly musí být zadány jako vzorky pacienta a monitorovány operátorem s ohledem na přijatelnost. Pozitivní kontrola pro GC slouží jako negativní kontrola pro test Aptima CT.

B. Pipetování kontroly a vzorku

Objem kontroly nebo vzorku přidaný do reakční zkumavky musí být $400 \mu\text{L} \pm 100 \mu\text{L}$. Doporučuje se vizuální kontrola objemu pipetovaného do reakční zkumavky, aby se zajistil přenos správného objemu. Správný objem kontroly nebo vzorku je nutný pro dosažení přesných výsledků. Pokud nebyl pipetován správný objem, proveďte nové pipetování wTCR CT a kontroly nebo vzorku do nové reakční zkumavky.

C. Reagencie

V rekonstitučním roztoku sondy může během uchovávání dojít ke vzniku precipitátu. Pokud k tomu dojde, zahřívejte rekonstituční roztok sondy při teplotě 62°C po dobu 1 až 2 minuty. Po tomto zahřívacím kroku může být rekonstituční roztok sondy použit dokonce i v případě, že v něm zůstává zbytek precipitátu. Po resuspenzi lahvičku promíchejte jemným převrácením a dávejte pozor na to, abyste nevytvářeli pěnu.

D. Teplota

1. Kroky zachycení cíle, amplifikace, hybridizace a selekce jsou závislé na teplotě. Proto je zásadně důležité, aby se ve vodní lázni udržovala teplota v určeném rozsahu.
2. Pokojová teplota je definována jako 15°C až 30°C .
3. Detekční kroky v testu musí být provedeny při teplotě 18°C až 28°C .

E. Čas

Reakce zachycení cíle, amplifikace, hybridizace a selekce jsou všechny závislé na čase. Dodržujte doby uvedené v části *Testovací postup systémů DTS*.

F. Míchání ve vortexové třepačce

Správné míchání ve vortexové třepačce je důležité pro úspěšné provedení testu Aptima CT. Při adekvátním míchání ve vortexové třepačce suspenze rotuje rychlostí, která zvedá roztok do horní poloviny zkumavky. Tato manipulace (rotace) je udržována po specifikované časové období. Pro míchání reakce ve vortexové třepačce nastavte multi-třepačku na nejnižší rychlost, stojan zajistěte a zapněte. Pomalu zvyšujte rychlost, dokud kapalina nedosáhne poloviny zkumavky. Míchejte ve vortexové třepačce po stanovenou dobu 10 sekund nebo dokud nebude barva uniformní. Před vypnutím vortexové třepačky pro více zkumavek snižte rychlost na nejnižší nastavení, poté třepačku vypněte a stojan vyjměte. Reakční směsi se nikdy nesmí dotýkat uzavíracích karet.

G. Vodní lázně

1. Hladina kapaliny ve vodních lázních musí být udržována na 3,8 cm až 5 cm (1,5 palce až 2,0 palce), měřeno od podpůrné kovové misky (na dně vodní lázně) k vodnímu povrchu. To zajistí správný přenos tepla.
2. Chcete-li zabránit zkřížené kontaminaci, je nutno vodní lázně vyhradit pro specifický krok testu.

H. Dekontaminace

1. Povrchy a pipetory

Laboratorní pracovní povrchy a pipetory musí být pravidelně dekontaminovány pomocí 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztoku chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte v kontaktu s povrchy po dobu minimálně 1 minuty a pak opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Chlorové roztoky mohou působit na zařízení a kovů důlkovou korozi. Důkladně opláchněte zařízení vodou, abyste předešli vzniku koroze.

2. Aspirační potrubí TCS
 - a. Umístěte nové TTC do stojanu na TTC. Zapněte vakuové čerpadlo. Připojte aspirační potrubí k špičkám v TTC. Nasajte všechny promývací roztok zbývající v plnicím korýtku rozdělovací stanice promývacího roztoku. (Posuňte rozdělovací potrubí mimo.)
 - b. Nalejte alespoň 100 mL 0,5 % až 0,7 % (0,07 M až 0,1 M) nebo pokud je to preferováno, tak 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztoku chlornanu sodného do plnicího korýtku. Nasajte veškerý roztok přes aspirační potrubí.
 - c. Nalejte alespoň 100 mL deionizované vody do plnicího korýtku. Nasajte veškerou vodu přes aspirační potrubí.
 - d. Vysuňte špičky do jejich originální TTC.
 - e. Ponechte vakuové čerpadlo zapnuté, dokud nebudou hadičky potrubí suché, aby se zabránilo zpětnému toku.
 - f. Povrchy aspiračního potrubí dekontaminujte, jak je popsáno v části *Jednotka systému zachycení cíle (TCS)*.

3. Odpadní kontejner systému TCS

Jakmile je odpadní láhev z 25 % plná (nebo každý týden), odstraňte odpadní láhev ze systému TCS.

- a. Vypněte vakuové čerpadlo a ponechte podtlak vyrovnat.
- b. Uvolněte díl pro rychlé odpojení konektorů mezi odpadní láhví a přepadovou láhví a odpadní láhví a aspiračním potrubím.
- c. Vyjměte odpadní láhev z přihrádky s podtlakovým ventilem.
- d. Odstraňte uzávěr a pozorně přidejte 400 mL 5 % až 7 % (0,7 M až 1,0 M) roztoku chlornanu sodného do láhve (nebo 1 L, pokud používáte 10 L odpadní láhev).

Poznámka: *To je možné provést v digestoři, abyste předešli uvolnění výparů do laboratoře.*

- e. Uzavřete odpadní láhev a opatrně zakroužením promíchejte obsah, dokud nebude zcela promíchán.
- f. Nechte odpadní láhev usadit 15 minut a pak obsah zlikvidujte (odpad).
- g. Opláchněte odpadní láhev vodou, abyste odstranili zbývající odpad.
- h. Uzavřete prázdnou odpadní láhev a umístěte ji do přihrádky s podtlakovým ventilem. Připojte díl pro rychlé odpojení k jednotce TCS. Opatrně zlikvidujte obě rukavice.

4. Jednotka systému zachycení cíle (TCS)

Otřete povrchy jednotky TCS, aspirační potrubí a ejekční špičky promývacího pufru papírovými utěrkami navlhčenými 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokem chlornanu sodného. Po kroku s chlornanem sodným pokračujte oplachem vodou a potom povrchy úplně vysušte papírovými utěrkami.

5. Stojany

Stojany ponořte do 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztoku chlornanu sodného tak, aby byly roztokem chlornanu sodného pokryty. Uchovávejte stojany ponořené po dobu 10 minut. Delší expozice by mohla stojany poškodit. Opláchněte stojany důkladně vodou a umístěte stojany na čistou absorbční podložku. Nechte stojan důkladně vyschnout na vzduchu. Chcete-li prodloužit životnost stojanů, nechte je vyschnout ve vzpřímené poloze, a nikoliv obráceně.

I. Kontaminace testu

1. Pokud není provádění testu věnována dostačující péče, může dojít k zanesení kontaminujících materiálů.
2. Jednotky TTU musí být dekontaminovány v deaktivační kapalině, jak je popsáno v části *Detekce*. Jednotky TTU nepoužívejte opakovaně.
3. Provádějte pravidelnou dekontaminaci zařízení a pracovních ploch tak, jak je popsáno v části *Poznámky k postupu, Dekontaminace*.
4. Podobně jako u jiných systémů reagensů může nadbytek talku z některých rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučují se rukavice bez talku.

J. Protokol monitorování kontaminace laboratoře pro systémy DTS

Existuje mnoho faktorů specifických pro laboratoř, které mohou přispívat ke kontaminaci, včetně počtu prováděných testů, průběhu práce, prevalence choroby a různých jiných laboratorních aktivit. Tyto faktory je třeba vzít v úvahu při stanovení frekvence monitorování kontaminace. Intervaly pro monitorování kontaminace je třeba určit na základě postupů a praxe každé laboratoře.

Chcete-li monitorovat laboratorní kontaminaci, je možné provést následující postupy s použitím odběrové soupravy tyčinek Aptima Unisex pro vzorky endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské močové trubice:

1. Přeprovací zkumavky na výtěr označte čísly odpovídajícími oblastem, které mají být testovány.
2. Vyjměte výtěrovou tyčinku (tyčinka s modrou násadou se zeleným potiskem) z obalu, namočte ji do přepravního média a proveďte stěr určené oblasti krouživým pohybem.
3. Okamžitě zasuňte výtěr do přepravní zkumavky.
4. Opatrně ulomte násadu tyčinky na rysce a nedovolte rozstříknutí obsahu.
5. Přeprovací zkumavku na výtěry opět neprodyšně uzavřete.
6. Opakujte kroky 2 až 5 pro všechny oblasti, které je třeba zkontrolovat.
7. Otestujte výtěr testem Aptima CT podle části *Testovací postup systémů DTS*.

Pokud jsou výsledky CT pozitivní nebo nejednoznačné (viz *Interpretace testu — Kontrola kvality / Výsledky pacienta*), povrchy mohou být kontaminovány a bude nutné je dekontaminovat roztokem chlornanu sodného, tak jak doporučuje část *Testovací postup systémů DTS, Příprava zařízení*.

Poznámka: Pokud existuje podezření na kontaminaci vodní lázně, je možné provést její test pomocí testovacího postupu na vzorky moči přidáním 2,0 mL vody z lázně do přepravní zkumavky na moč.

K. Řešení problémů

1. Nízce pozitivní kontrolní hodnoty mohou být způsobeny nesprávnými teplotami během různých kroků testu nebo umožněním delšího selekčního času v selekčním kroku, než je doporučeno.
2. Vysoké pozadí se může objevit, pokud je selekční čas v selekčním kroku zkrácený, selekční teplota je nesprávná nebo dochází k nedostatečnému míchání po přidání selekční reagensie.
3. Pokud je pozitivní kontrola Aptima GC, která je označena „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“ pozitivní nebo nejednoznačná pro CT, viz část *Poznámky k postupu, Kontaminace testu*, kde je uvedeno více informací.

Systém Tigris DTS

Reagencie testu Aptima CT pro systém Tigris DTS jsou uvedeny níže. Vedle názvu reagentie jsou také uvedeny identifikační symboly reagentie.

Dodávané materiály a reagentie

Poznámka: Informace o H-větvích a P-větvích, které mohou být spojeny s reagentiemi, naleznete v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologic.com/sds.

Souprava testu Aptima Chlamydia trachomatis

100 testů (2 krabice a 1 souprava kontrol) (kat. č. 303091)

Chladicí box pro test Aptima Chlamydia trachomatis (krabice 1 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě od 2 °C do 8 °C)

Symbol	Složka	Množství souprava s 100 testy
A	Amplifikační reagentie Aptima CT <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku obsahujícím < 5 % objemové látky.</i>	1 lahvička
E	Enzymatická reagentie Aptima <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v HEPES pufrovaném roztoku obsahujícím < 10 % objemové látky.</i>	1 lahvička
P	Reagentie sondy Aptima CT <i>Neinfekční chemiluminiscenční DNA sondy vysušené v sukcinátem pufrovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
TCR-B	Reagentie B pro zachycení cíle Aptima <i>Neinfekční nukleové kyseliny v pufrovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 x 0,30 mL

Box s pokojovou teplotou pro test Aptima Chlamydia trachomatis (krabice 2 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě od 15 °C do 30 °C)

Symbol	Složka	Množství souprava s 100 testy
AR	Amplifikační rekonstituční roztok Aptima CT <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 11,9 mL
ER	Enzymatický rekonstituční roztok Aptima <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 6,3 mL
PR	Rekonstituční roztok sondy Aptima CT <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 x 15,2 mL
S	Selekční reagentie Aptima <i>600 mM boritanem pufovaný roztok obsahující surfaktant.</i>	1 x 43,0 mL
TCR	Reagentie pro zachycení cíle Aptima CT <i>Pufovaný roztok soli obsahující solidní fázi a záchytné oligomery.</i>	1 x 26,0 mL
	Rekonstituční objímky	3
	Seznam čárových kódů hlavní šarže	1 list

Souprava kontrol Aptima
(po přijetí skladujte při teplotě od 2 °C do 8 °C)

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

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

Potřebný materiál, který se dodává zvlášť

Poznámka: Materiály dostupné u Hologic mají uvedeno katalogové číslo, není-li specifikováno jinak.

	<u>Kat. č.</u>
Systém Tigris DTS	105118
Souprava kapalin pro test Aptima <i>(Promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivční kapalinu a olejová reagentie Aptima)</i>	302382
Souprava Aptima Auto Detect	301048
Souprava konzervantů kapalin pro systém Aptima	302380
Špičky, 1 000 µL, vodivé, detekující kapalinu	10612513 (Tecan)
Souprava pro cykly systému Tigris DTS obsahující <i>Jednotky pro více zkumavek (Multi-tube Units - MTU) 104772-02</i> <i>Souprava odpadního vaku na MTU/špičky 900907</i> <i>Deflektor pro odpadové MTU 900931</i> <i>Kryty pro odpad MTU 105523</i>	301191
Souprava Aptima pro přenos vzorků <i>pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt</i>	301154C
Souprava Aptima pro přenos vzorků — potisknutelné <i>pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt</i>	PRD-05110
Souprava pro odběr stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Odběrová souprava tyčinek Aptima Unisex pro vzorky endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské močové trubice	301041
Odběrová souprava Aptima pro vzorky moči mužů a žen	301040
Přepravní zkumavky Aptima pro vzorky moči mužů a žen	105575
Bělidlo, 5 % až 7 % (0,7 M až 1,0 M) roztok chlornanu sodného	—
Voda pro systém Tigris DTS <i>specifikace viz Návod k obsluze systému Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)</i>	—
Rukavice na jedno použití ok	—
Kalibrační standard SysCheck	301078
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy s 100 testy <i>Rekonstituční roztoky pro amplifikační a enzymatické reagentie a reagentie sondy CL0041 (100 uzávěrů)</i> <i>TCR a selekční reagentie 501604 (100 uzávěrů)</i>	—

Volitelné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Souprava kontrol Aptima	301110
Přídavek Hologic do bělidla <i>pro pravidelné čištění povrchů a zařízení</i>	302101

Testovací postup systému Tigris DTS

Poznámka: Viz Návod k obsluze systému Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual), kde jsou uvedeny dodatečné informace k systému Tigris DTS.

A. Příprava pracovního místa

1. Vyčistěte pracovní plochy, kde se budou připravovat reagenty a vzorky. Pracovní plochy otřete 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte v kontaktu s povrchy po dobu minimálně 1 minuty a pak opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte pracovní plochu, na níž se budou připravovat reagenty a vzorky, čistým absorpčním laboratorním krytem na pracovní desky, který je potažen na spodní straně plastem.

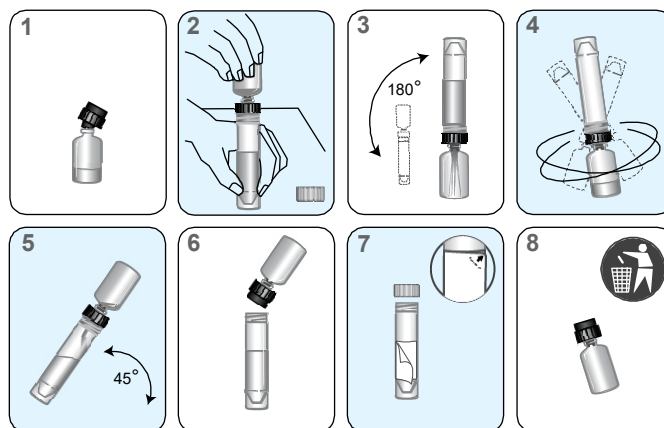
B. Rekonstituce reagentů a příprava nové soupravy

Poznámka: Rekonstituce reagentů se má provádět před zahájením jakékoliv práce na systému Tigris DTS.

1. K rekonstituci reagentů Amplification CT, Enzyme a Probe CT smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagenty a rekonstituční roztok. V případě, že byly uloženy v chladničce, nechte rekonstituované roztoky před použitím dosáhnout pokojové teploty.
 - a. Spárujte každý rekonstituční roztok s jeho lyofilizovanou reagenty. Ujistěte se, že rekonstituční roztok a lyofilizační reagenty mají shodné barvy označení předtím, než připojíte rekonstituční objímku.
 - b. Zkontrolujte čísla šarží na seznamu čárových kódů hlavní šarže, abyste zajistili, že budou spárovány odpovídající reagenty.
 - c. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagenty a pevně zasuňte konec rekonstituční objímky s drážkou do otvoru v lahvičce (obrázek 2, krok 1).
 - d. Otevřete odpovídající lahvičku rekonstitučního roztoku a umístěte uzávěr na čistý zakrytý pracovní povrch.
 - e. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na pracovní desce, pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do láhve (obrázek 2, krok 2).
 - f. Sestavené lahve pomalu převraťte. Nechte roztok vytéct z láhve do skleněné lahvičky (obrázek 2, krok 3).
 - g. Jemně roztokem v lahvičce zakružte aby se promíchal. Při kroužení lahvičkou zamezte vzniku pěny (obrázek 2, krok 4).
 - h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagenty rozpustí v roztoku, a pak převraťte sestavené lahve ještě jednou nakloněním v úhlu 45°, aby se minimalizoval vznik pěny (obrázek 2, krok 5). Nechte veškerou kapalinu natéct zpět do plastové lahve.
 - i. Sejměte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (obrázek 2, krok 6).

- j. Láhev znovu uzavřete.
- U lahvíček pro 100 testů zaznamenejte iniciály obsluhy a datum rekonstituce přímo na štítku (viz obrázek 3).
- k. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (obrázek 2, krok 8).

Varování: Při rekonstituci reagensů zabraňte vzniku pěny. Pěna narušuje detekci hladiny v systému Tigris DTS.



Obrázek 2. Rekonstituční proces v systému Tigris DTS

- Připravte pracovní reagensii pro zachycení cíle CT (wTCR CT) pro soupravu 100 testů.
 - Spárujte odpovídající láhve TCR CT a TCR-B.
 - Zkontrolujte čísla šarže reagensie na seznamu čárových kódů hlavní šarže, abyste zajistili, že budou spárovány odpovídající reagensie soupravy.
 - Otevřete láhev s TCR CT a umístěte uzávěr na čistý zakrytý pracovní povrch.
 - Otevřete láhev TCR-B a nalejte celý obsah do láhve TCR CT. Očekávejte, že malé množství kapaliny může v láhvi TCR-B zůstat.
 - Zavřete TCR CT láhev a jemně s ní zakružte, aby se obsah zamíchal. Při tomto kroku zabraňte vzniku pěny.
 - Zaznamenejte iniciály obsluhy a aktuální datum na štítku.
 - Zlikvidujte láhev TCR-B a uzávěr.
- Připravte selekční reagensii
 - Zkontrolujte, zda číslo šarže lahvičky reagensie odpovídá číslu šarže na seznamu čárových kódů hlavní šarže.
 - Zaznamenejte iniciály obsluhy a aktuální datum na štítku.

Poznámka: Před založením do systému všechny reagensie důkladně promíchejte jemným převrácením. Při převrácení reagensii zabraňte vzniku pěny.

C. Příprava reagensií (pro dříve rekonstituované reagensie)

- Dříve rekonstituované amplifikační CT reagensie enzymatické reagensie a reagensie CT sondy musí před zahájením testu dosáhnout pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
- Pokud rekonstituovaná reagensie sondy CT obsahuje precipitát, který se při pokojové teplotě nevrací do roztoku, zahřívejte uzavřenou lahvičku při teplotě, která nepřekročí 62 °C, po dobu 1 až 2 minut. Po tomto zahřívacím kroku může být reagensie sondy CT použita dokonce i v případě, že v ní zůstává zbytek precipitátu. Před zavedením do

systému promíchejte reagensii sondy CT převrácením a dávejte pozor na to, aby nevznikla pěna.

3. Každou reagensii před založením do systému důkladně promíchejte jemným převrácením. Při převrácení reagensii zabraňte vzniku pěny.
4. Lahve s reagensii nedoplňujte. Systém Tigris DTS rozpozná lahve, které byly doplněny, a zamítne je.

D. Manipulace se vzorkem

1. Před zpracováním nechte kontroly a vzorky dosáhnout pokojové teploty.
2. **Vzorky nemíchejte ve vortexové třepačce.**
3. Vizually zkontrolujte, že všechny zkumavky se vzorky splňují následující kritéria:
 - a. Přítomnost jediné modré odběrové tyčinky Aptima v přepravní zkumavce na vzorky od pacientů obou pohlaví.
 - b. Přítomnost jediného růžového odběrového tamponu Aptima v přepravní zkumavce pro vzorky z vaginálního stěru nebo pro vzorky z multitestu.
 - c. Konečný objem moči mezi černými ryskami na přepravní zkumavce pro vzorky moči.
 - d. Nepřítomnost odběrové tyčinky v přepravní zkumavce Aptima pro tekuté vzorky Pap v roztoku PreservCyt.
4. Zkontrolujte zkumavky se vzorky před založením do stojanu:
 - a. Pokud zkumavka se vzorkem obsahuje bubliny v prostoru mezi tekutinou a uzávěrem, odstředte zkumavku po dobu 5 minut při 420 RCF, abyste bubliny odstranili.
 - b. Pokud zkumavka se vzorkem obsahuje menší objem, než je typicky pozorováno při dodržování odběrových pokynů, odstředte zkumavku po dobu 5 minut při 420 RCF, abyste zajistili, že v uzávěru není žádná kapalina.
 - c. Pokud hladina kapaliny ve zkumavce se vzorkem moči není mezi dvěma černými ryskami štítku, vzorek musí být zamítnut. Nepropichujte přeplněnou zkumavku.
 - d. Pokud zkumavka se vzorkem moči obsahuje precipitát, zahřívejte ji na teplotu 37 °C po dobu až 5 minut. V případě, že se precipitát znovu nerozpustí, vizually zkontrolujte, že precipitát nebrání dodání vzorku.

Poznámka: Pokud nedodržíte kroky 4a–4c, může to způsobit únik tekutiny z uzávěru zkumavky se vzorkem.

Poznámka: Z každé zkumavky se vzorkem je možné testovat až 3 samostatné alikvoty. Snaha odpipetovat ze zkumavky se vzorkem více než 3 alikvoty může způsobit chyby v důsledku nedostatečného objemu.

E. Příprava systému

Sestavte systém a pracovní seznam podle instrukcí v *Návodu k obsluze systému Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)* a v části *Poznámky k postupu*.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. Pro správnou funkci se softwarem testu Aptima pro systém Tigris DTS jsou nezbytné přední a koncové kontroly. Pozitivní kontrola GC/negativní kontrola CT musí být v první pozici a v předposlední pozici pracovního seznamu. Tento štítek kontroly je modrozelený. Text na štítku je „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“. Pozitivní

kontrola CT/negativní kontrola GC musí být v druhé pozici a poslední pozici pracovního seznamu. Tento štítek kontroly je růžový. Text na štítku je „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“.

2. Každá kontrolní zkumavka Aptima může být testována jednou. Pokusíte-li se ze zkumavky pipetovat vícekrát, může to způsobit chyby v důsledku nedostatečného objemu.

B. Teplota

Pokožková teplota je definována jako 15 °C až 30 °C.

C. Prášek na rukavice

Podobně jako u jiných systémů reagensů může nadbytek talku z některých rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučují se rukavice bez talku.

D. Protokol monitorování kontaminace laboratoře pro systém Tigris DTS

Existuje mnoho faktorů specifických pro laboratoř, které mohou přispívat ke kontaminaci, včetně počtu prováděných testů, průběhu práce, prevalence choroby a různých jiných laboratorních aktivit. Tyto faktory je třeba vzít v úvahu při stanovení frekvence monitorování kontaminace. Intervaly pro monitorování kontaminace je třeba určit na základě postupů a praxe každé laboratoře.

Chcete-li monitorovat laboratorní kontaminaci, je možné provést následující postupy s použitím odběrové soupravy tyčinek Aptima Unisex pro vzorky endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské močové trubice:

1. Přepravní zkumavky na výtěr označte čísly odpovídajícími oblastem, které mají být testovány.
2. Vyjměte výtěrovou tyčinku (tyčinka s modrou násadou se zeleným potiskem) z obalu, namočte ji do přepravního média a proveďte stěr určené oblasti krouživým pohybem.
3. Okamžitě zasuněte výtěr do přepravní zkumavky.
4. Opatrně ulomte násadu tyčinky na rysce a nedovolte rozstříknutí obsahu.
5. Přepravní zkumavku na výtěry opět neprodyšně uzavřete.
6. Opakujte kroky 2 až 5 pro všechny oblasti, které je třeba zkontrolovat.

Pokud jsou výsledky CT pozitivní nebo nejednoznačné, přečtěte si část *Interpretace testu* — *Kontrola kvality / Výsledky pacienta*. Další informace o monitorování kontaminace specifické pro systém Tigris DTS, viz *Návod k obsluze systému Tigris DTS*.

Systém Panther

Reagencie testu Aptima CT pro systém Panther jsou uvedeny níže. Vedle názvu reagentie jsou také uvedeny identifikační symboly reagentie.

Dodávané materiály a reagentie

Poznámka: Informace o H-větvích a P-větvích, které mohou být spojeny s reagentiemi, naleznete v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologic.com/sds.

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

Chladicí box pro test Aptima Chlamydia trachomatis (krabice 1 ze 2)

(po přijetí skladujte při teplotě od 2 °C do 8 °C)

Symbol	Složka	Množství
A	Amplifikační reagentie Aptima CT <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku obsahujícím < 5 % objemové látky.</i>	1 lahvička
E	Enzymatická reagentie Aptima CT <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v HEPES pufrovaném roztoku obsahujícím < 10 % objemové látky.</i>	1 lahvička
P	Reagentie sondy Aptima CT <i>Neinfekční chemiluminiscenční DNA sondy vysušené v sukcinátem pufrovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
TCR-B	Reagentie B pro zachycení cíle Aptima CT <i>Neinfekční nukleové kyseliny v pufrovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 x 0,30 mL

Box s pokojovou teplotou pro test Aptima Chlamydia trachomatis (krabice 2 ze 2)

(po přijetí skladujte při teplotě od 15 °C do 30 °C)

Symbol	Složka	Množství
AR	Amplifikační rekonstituční roztok Aptima CT <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 11,9 mL
ER	Enzymatický rekonstituční roztok Aptima CT <i>Roztok pufrovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 6,3 mL
PR	Rekonstituční roztok sondy Aptima CT <i>Sukcinátem pufrovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 x 15,2 mL
S	Selekční reagentie Aptima CT <i>600 mM boritanem pufrovaný roztok obsahující surfaktant.</i>	1 x 43,0 mL
TCR	Reagentie pro zachycení cíle Aptima CT <i>Pufrovaný roztok soli obsahující solidní fázi a záchytné oligomery.</i>	1 x 26,0 mL
	Rekonstituční objímky	3
	Seznam čárových kódů hlavní šarže	1 list

Souprava kontrol Aptima
(po přijetí skladujte při teplotě od 2 °C do 8 °C)

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

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

Potřebný materiál, který se dodává zvlášť

Poznámka: Materiály dostupné u Hologic mají uvedeno katalogové číslo, není-li specifikováno jinak.

	<u>Kat. č.</u>
Systém Panther	303095
Souprava kapalin pro test Aptima <i>(Promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivční kapalinu a olejová reagentie Aptima)</i>	303014 (1 000 testů)
Souprava Aptima Auto Detect	303013 (1 000 testů)
Jednotky pro více zkumavek (MTU)	104772-02
Souprava odpadního vaku Panther	902731
Kryt odpadní nádoby Panther nebo souprava pro cykly Panther <i>obsahuje jednotky MTU, odpadní vaky, kryty odpadních nádob, kapaliny pro test a roztoky Auto Detect</i>	504405 303096 (1 000 testů)
Špičky, 1 000 µL, vodivé, detekující kapalinu	10612513 (Tecan)
Souprava Aptima pro přenos vzorků <i>pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt</i>	301154C
Souprava Aptima pro přenos vzorků — potisknutelné <i>pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt</i>	PRD-05110
Souprava pro odběr stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Odběrová souprava tyčinek Aptima Unisex pro vzorky endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské močové trubice	301041
Odběrová souprava Aptima pro vzorky moči mužů a žen	301040
Přepravní zkumavky Aptima pro vzorky moči mužů a žen	105575
Bělidlo, 5 % až 7 % (0,7 M až 1,0 M) roztok chlornanu sodného	—
Rukavice na jedno použití ok	—

Kalibrační standard SysCheck	301078
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy s 100 testy	—
<i>Rekonstituční roztoky pro amplifikační a enzymatické reagensy a reagensy sondy</i>	<i>CL0041 (100 uzávěrů)</i>
<i>TCR a selektivní reagensy</i>	<i>501604 (100 uzávěrů)</i>

Volitelné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Souprava kontrol Aptima	301110
Přídavek Hologic do bělidla <i>pro pravidelné čištění povrchů a zařízení</i>	302101

Testovací postup systému Panther

Poznámka: Viz Návod k obsluze systému Panther (*Panther System Operator's Manual*), kde jsou uvedeny dodatečné informace k systému Panther.

A. Příprava pracovního místa

1. Vyčistěte pracovní plochy, kde se budou připravovat reagensy a vzorky. Pracovní plochy otřete 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte v kontaktu s povrchy po dobu minimálně 1 minuty a pak opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte pracovní plochu, na níž se budou připravovat reagensy a vzorky, čistým absorpčním laboratorním krytem na pracovní desky, který je potažen na spodní straně plastem.

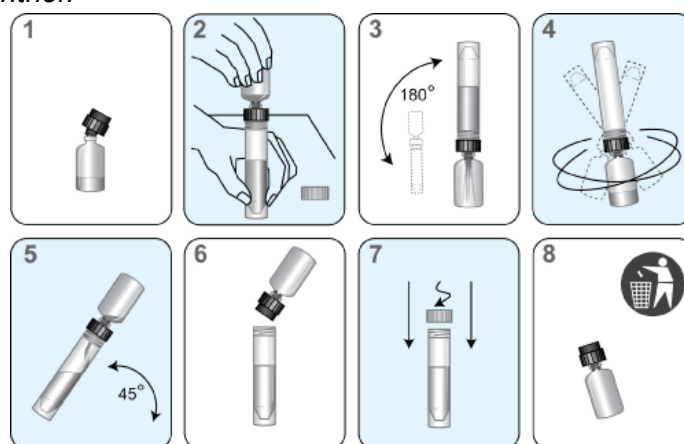
B. Rekonstituce reagensů a příprava nové soupravy

Poznámka: Rekonstituce reagensů musí být provedena před zahájením jakékoliv práce na systému Panther.

1. Chcete-li rekonstituovat amplifikační reagensy CT, enzymatické reagensy CT a reagensy sondy CT, zkombinujte láhve lyofilizované reagensy s rekonstitučním roztokem. V případě uložení v chladničce nechte rekonstituční roztoky před použitím dosáhnout pokojové teploty.
 - a. Spárujte každý rekonstituční roztok s jeho lyofilizovanou reagensy. Ujistěte se, že rekonstituční roztok a reagensy mají shodné barvy označení předtím, než připojíte rekonstituční objímku.
 - b. Zkontrolujte čísla šarží na seznamu čárových kódů hlavní šarže, abyste zajistili, že budou spárovány odpovídající reagensy.
 - c. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagensy a pevně zasuňte konec rekonstituční objímky s drážkou do otvoru v lahvičce (obrázek 3, krok 1).
 - d. Otevřete odpovídající rekonstituční roztok a umístěte uzávěr na čistý zakrytý pracovní povrch.
 - e. Držte lahvičku s roztokem na pracovní desce a pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do otvoru v láhvi (obrázek 3, krok 2).

- f. Sestavené lahve pomalu převraťte. Nechte roztok vytéct z láhve do skleněné lahvičky (obrázek 3, krok 3).
- g. Roztok v lahvičce promíchejte jemným zakroužením. Při kroužení lahví zamezte vzniku pěny (obrázek 3, krok 4).
- h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagensie rozpustí v roztoku, a pak převraťte sestavené lahve ještě jednou nakloněním v úhlu 45°, aby se minimalizoval vznik pěny (obrázek 3, krok 5). Nechte veškerou kapalinu natéct zpět do plastové lahve.
- i. Sejměte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (obrázek 3, krok 6).
- j. Plastovou láhev uzavřete. Zaznamenejte iniciály obsluhy a datum rekonstituce na štítku (obrázek 3, krok 7).
- k. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (obrázek 3, krok 8).

Varování: Při rekonstituci reagensií zabraňte vzniku pěny. Pěna narušuje detekci hladiny v systému Panther.



Obrázek 3. Rekonstituční proces v systému Panther

2. Připravte pracovní reagensii záchytu cíle CT (wTCR CT)
 - a. Spárujte odpovídající láhve TCR CT a TCR-B.
 - b. Zkontrolujte čísla šarže reagensie na seznamu čárových kódů hlavní šarže, abyste zajistili, že budou spárovány odpovídající reagensie soupravy.
 - c. Otevřete láhev s TCR CT a umístěte uzávěr na čistý zakrytý pracovní povrch.
 - d. Otevřete láhev TCR-B a nalejte celý obsah do láhve TCR CT. Očekávejte, že malé množství kapaliny může v láhvi TCR-B zůstat.
 - e. Zavřete TCR CT láhev a jemně s ní zakružte, aby se obsah zamíchal. Při tomto kroku zabraňte vzniku pěny.
 - f. Zaznamenejte iniciály obsluhy a aktuální datum na štítku.
 - g. Zlikvidujte láhev TCR-B a uzávěr.
3. Připravte selekční reagensii
 - a. Zkontrolujte, zda číslo šarže lahvičky reagensie odpovídá číslu šarže na seznamu čárových kódů hlavní šarže.
 - b. Zaznamenejte iniciály obsluhy a aktuální datum na štítku.

Poznámka: Před založením do systému všechny reagensie důkladně promíchejte jemným převracením. Při převracení reagensií zabraňte vzniku pěny.

C. Příprava reagensií (pro dříve rekonstituované reagensie)

1. Dříve rekonstituované amplifikační a enzymatické reagensie a reagensie sondy musí před zahájením testu dosáhnout pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
2. Pokud rekonstituovaná reagensie sondy CT obsahuje precipitát, který se při pokojové teplotě nevrací do roztoku, zahřívejte uzavřenou lahvičku při teplotě, která nepřekročí 62 °C, po dobu 1 až 2 minut. Po tomto zahřívacím kroku může být reagensie sondy CT použita dokonce i v případě, že v ní zůstává zbytek precipitátu. Před zavedením do systému promíchejte reagensii sondy CT převrácením a dávejte pozor na to, aby nevznikla pěna.
3. Každou reagensii před založením do systému důkladně promíchejte jemným převrácením. Při převrácení reagensií zabraňte vzniku pěny.
4. Lahve s reagensiemi nedoplňujte. Systém Panther rozpozná lahve, které byly doplněny, a zamítne je.

D. Manipulace se vzorkem

1. Před zpracováním nechte kontroly a vzorky dosáhnout pokojové teploty.
2. **Vzorky nemíchejte ve vortexové třepačce.**
3. Vizuálně zkontrolujte, že všechny zkumavky se vzorky splňují následující kritéria:
 - a. Přítomnost jediné modré odběrové tyčinky Aptima v přepravní zkumavce na vzorky od pacientů obou pohlaví.
 - b. Přítomnost jediného růžového odběrového tamponu Aptima v přepravní zkumavce pro vzorky z vaginálního stěru nebo pro vzorky z multitestu.
 - c. Konečný objem moči mezi černými ryskami na přepravní zkumavce pro vzorky moči.
 - d. Nepřítomnost odběrové tyčinky v přepravní zkumavce Aptima pro tekuté vzorky Pap v roztoku PreservCyt.
4. Zkontrolujte zkumavky se vzorky před založením do stojanu:
 - a. Pokud zkumavka se vzorkem obsahuje bubliny v prostoru mezi tekutinou a uzávěrem, odstředte zkumavku po dobu 5 minut při 420 RCF, abyste bubliny odstranili.
 - b. Pokud má zkumavka se vzorkem menší objem, než je typicky pozorováno při dodržování odběrových pokynů, odstředte zkumavku po dobu 5 minut při 420 RCF, abyste zajistili, že v uzávěru není žádná kapalina.
 - c. Pokud hladina kapaliny ve zkumavce se vzorkem moči není mezi dvěma černými ryskami štítku, vzorek musí být zamítnut. Nepropichujte přeplněnou zkumavku.
 - d. Pokud zkumavka se vzorkem moči obsahuje precipitát, zahřívejte ji na teplotu 37 °C po dobu až 5 minut. V případě, že se precipitát znovu nerozpustí, vizuálně zkontrolujte, že precipitát nebrání dodání vzorku.

Poznámka: Pokud nedodržíte kroky 4a–4c, může to způsobit únik tekutiny z uzávěru zkumavky se vzorkem.

Poznámka: Z každé zkumavky se vzorkem je možné testovat až 4 samostatné alikvoty. Snaha odpipetovat ze zkumavky se vzorkem více než 4 alikvoty může způsobit chyby zpracování.

E. Příprava systému

1. Sestavte systém podle instrukcí v *Návodu k obsluze systému Panther (Panther System Operator's Manual)* a v části *Poznámky k postupu*. Zajistěte, aby byly použity stojany na reagensie a TCR adaptéry správné velikosti.
2. Založte vzorky do přístroje.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. Pro správnou funkci se softwarem testu Aptima pro systém Panther je požadován jeden pár kontrol. Zkumavky s pozitivní kontrolou CT/negativní kontrolou GC a pozitivní kontrolou GC/negativní kontrolou CT lze založit do kterékoliv pozice na stojanu nebo kterékoliv řady nosiče vzorků v systému Panther. Pipetování patientského vzorku započne, jakmile bude splněna jedna z následujících dvou podmínek:
 - a. Systém momentálně zpracovává jeden pár kontrol.
 - b. V systému jsou zaregistrovány platné výsledky kontrol.
2. Jakmile byly pipetovány kontrolní zkumavky a jsou zpracovávány pro specifickou šarži reagensů, s přidruženou soupravou reagensů je možné zpracovávat patientské vzorky maximálně po dobu 24 hodin, s následujícími **výjimkami**:
 - a. Kontroly jsou neplatné.
 - b. Souprava reagensů přidruženého testu je vyjmuta ze systému.
 - c. Vypršela doba stability soupravy reagensů přidruženého testu.
3. Každá kontrolní zkumavka Aptima může být testována jednou. Pokud se ze zkumavky pipetovat vícekrát, může to způsobit chyby zpracování.

B. Teplota

Pokožková teplota je definována jako 15 °C až 30 °C.

C. Prášek na rukavice

Podobně jako u jiných systémů reagensů může nadbytek talku z některých rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučují se rukavice bez talku.

D. Protokol monitorování kontaminace laboratoře pro systém Panther

Existuje mnoho faktorů specifických pro laboratoř, které mohou přispívat ke kontaminaci, včetně počtu prováděných testů, průběhu práce, prevalence choroby a různých jiných laboratorních aktivit. Tyto faktory je třeba vzít v úvahu při stanovení frekvence monitorování kontaminace. Intervaly pro monitorování kontaminace je třeba určit na základě postupů a praxe každé laboratoře.

Chcete-li monitorovat laboratorní kontaminaci, je možné provést následující postupy s použitím odběrové soupravy tyčinek Aptima Unisex pro vzorky endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské močové trubice:

1. Přepavní zkumavky na výtěr označte čísly odpovídajícími oblastem, které mají být testovány.
2. Vyjměte výtěrovou tyčinku (tyčinka s modrou násadou se zeleným potiskem) z obalu, namočte ji do přepravního média a proveďte stěr určené oblasti krouživým pohybem.
3. Okamžitě zasuňte tyčinku do přepravní zkumavky.
4. Opatrně ulomte násadu tyčinky na rysce a nedovolte rozstříknutí obsahu.
5. Přepavní zkumavku na výtěry opět neprodyšně uzavřete.
6. Opakujte kroky 2 až 5 pro všechny oblasti, které je třeba zkontrolovat.

Pokud jsou výsledky CT pozitivní nebo nejednoznačné, přečtěte si část *Interpretace testu — Kontrola kvality / Výsledky pacienta*. Další informace o monitorování kontaminace specifické pro systém Panther Vám poskytne technická podpora společnosti Hologic.

Interpretace testu — Kontrola kvality / Výsledky pacienta

A. Interpretace testu

Výsledky testu jsou automaticky interpretovány softwarem testu Aptima s použitím protokolu CT. Výsledek testu může být negativní, nejednoznačný, pozitivní nebo neplatný dle celkové hodnoty RLU při detekčním kroku (viz níže). Výsledek testu může být neplatný, pokud je hodnota RLU mimo normální očekávaný rozsah. V případě úvodních nejednoznačných a neplatných výsledků testů se testy musí zopakovat.

Interpretace testu	Celková RLU (x1 000)
Negativní	0* až < 50
Nejednoznačný	50 až < 100
Nízké RLU pozitivní ^{1,2,3}	100 až < 5 000
Pozitivní ^{1,2}	5 000 až < 12 000
Neplatný	0* nebo > 12 000

* Nulový výsledek RLU (0 x 1 000) v hlášení cyklu znamená hodnotu mezi nulou a 999 RLU. Hodnoty RLU nižší než 160 na systémech DTS nebo než 690 na systému Tigris DTS nebo systému Panther budou hlášeny jako neplatné.

¹ Podle pokynů CDC „je nutno zvážit další pravidelné testování osob s pozitivními výsledky screeningů na CT nebo GC, pokud informace o rizikových faktorech nebo aktuální průzkum naznačuje, že prevalence je nízká a má za následek nižší PPH (např. < 90 %).“ Podrobnosti o dalším testování a péči o pacienty po pozitivním screeningovém testu vyhledejte v pokynech CDC (4).

² Distribuce výsledků RLU je uvedena v tabulce 3. Výška hodnoty RLU není indikátorem výšky hladiny organismu ve vzorku.

³ Údaje naznačují, že v nízkém pozitivním rozsahu musí být pozitivní výsledky pozorně interpretovány s vědomím, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků může být vyšší, než správných pozitivních výsledků.

B. Výsledky kontroly kvality a přijatelnost

Negativní kontrola Aptima CT, která je označena „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“, a pozitivní kontrola Aptima CT, která je označena „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“ působí jako kontroly zachycení cíle, amplifikace a detekčních kroků testu. V souladu s pokyny nebo požadavky místních, státních a federálních předpisů nebo akreditačních organizací mohou být zahrnuty další kontroly pro lýzu buňky a stabilizaci RNA. Negativní kontrola pro CT, která je označena „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“, obsahuje neinfekční GC rRNA. Další kontroly si můžete objednat jako soupravu. Správná příprava vzorků se potvrzuje vizuální kontrolou zda je v přepravní zkumavce s výtěrem přítomna jediná odběrová tyčinka Aptima, zda je konečný objem moči v přepravní zkumavce na moč mezi černými ryskami a zda u tekutých vzorků Pap v přepravní zkumavce na vzorky Aptima není přítomna odběrová tyčinka.

Pozitivní kontroly musí produkovat následující výsledky testu:

Kontrola	Celková RLU (x1 000)	Výsledek CT
Pozitivní kontrola GC/ negativní kontrola CT	0* a < 50	Negativní
Pozitivní kontrola CT/ negativní kontrola GC	≥ 100 a < 12 000	Pozitivní

* Nulový výsledek RLU (0 x 1 000) v hlášení cyklu znamená hodnotu mezi nulou a 999 RLU. Hodnoty RLU nižší než 160 na systémech DTS nebo než 690 na systému Tigris DTS nebo systému Panther budou hlášeny jako neplatné.

1. Software testu Aptima automaticky vyhodnotí kontroly podle výše uvedených kritérií a bude hlásit Run Status (Status cyklu) jako PASS (PROŠEL), pokud jsou splněna kritéria kontroly a FAIL (NEPROŠEL), pokud nejsou splněna kritéria kontroly.
2. Pokud je Run Status (Status cyklu) označen jako FAIL (NEPROŠEL), všechny výsledky testu ve stejném cyklu jsou neplatné a nesmí být hlášeny.
3. Každá laboratoř musí zavést příslušné kontrolní postupy pro splnění požadavků předpisů CLIA (část 493.1256).

Poznámka: Viz *Řešení problémů nebo kontaktujte technickou podporu Hologic, potřebujete-li pomoc s kontrolami, které jsou v systémech DTS mimo rozsah.*

4. Parametr systému Tigris DTS umožňuje každému centru specifikovat frekvenci „mezí kontroly“, kdy další sady kontrol mohou být umístěny v definovaných intervalech do pracovního seznamu. Pokud je tento parametr specifikován, systém Tigris DTS bude vyžadovat sadu kontrol umístěnou za definovaný počet vzorků v kontrolní mezi. Systém Tigris DTS automaticky vyhodnotí každou kontrolu v pracovním seznamu v souladu s výše uvedenými kritérii a všechny vzorky v postižených kontrolních mezích budou neplatné, pokud kontrolní kritéria nejsou splněna. Viz *Návod k obsluze systému Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)*, kde jsou uvedeny podrobnosti.
5. Negativní kontroly nemusí být efektivní v monitorování náhodného přenosu. Viz *Analytická výkonnost systému Tigris DTS*, kde jsou uvedeny výsledky studie analytického přenosu vysokého cíle, která byla provedena k demonstraci zvládnutí přenosu na systému Tigris DTS. Viz *Analytická výkonnost systému Panther*, kde jsou uvedeny výsledky studie analytického přenosu vysokého cíle, která byla provedena k demonstraci zvládnutí přenosu na systému Panther.

C. Kontrola přípravy vzorku (volitelné)

Negativní kontrola Aptima CT, která je označena „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“, a pozitivní kontrola Aptima CT, která je označena „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“ působí jako kontroly zachycení cíle, amplifikace a detekčních kroků testu a musí být zahrnuty v každém cyklu testu. Pokud je to vyžadováno, kontroly pro lýzu buňky a stabilizaci RNA mohou být testovány v souladu s požadavky příslušných akreditačních organizací nebo individuálních laboratorních postupů. Známé pozitivní vzorky mohou sloužit jako kontroly připravované a testované spolu s neznámými vzorky. Vzorky použité jako kontroly přípravy musí být uloženy, manipulovány a testovány v souladu s příbalovou informací. Kontroly přípravy vzorku musí být interpretovány stejným způsobem, jak je popsáno pro testované vzorky pacienta. Viz *Interpretace testu — Kontrola kvality / Výsledky pacienta, Výsledky testu pacienta.*

D. Výsledky testu pacienta

1. Pokud kontroly v jakémkoli cyklu nevykazují očekávané výsledky, výsledky testu vzorků pacienta ve stejném cyklu nesmí být hlášeny.
2. Výsledky výtěru, vzorků moči a tekutého Pap vzorku v roztoku PreservCyt. Viz *Poznámky* níže.
 - a. Úvodní výsledky

CT poz*	Pozitivní na CT rRNA.
CT negativní	Předpokládané negativní na CT rRNA.
CT nejednoznačný	Vzorek musí být znovu testován.
Neplatný	Vzorek musí být znovu testován.

b. Opakujte test výsledků

CT poz*	Pozitivní na CT rRNA.
CT negativní	Předpokládané negativní na CT rRNA.
CT nejednoznačný	Neurčitý, je třeba odebrat nový vzorek.
Neplatný	Neurčitý, je třeba odebrat nový vzorek.

*Výsledků vzorků s nízkým pozitivním RLU jsou zahrnuty do této kategorie. Viz *Interpretace testu — Kontrola kvality / Výsledky pacienta* výše.

Poznámky

- První platný výsledek, který není nejednoznačný pro každý analyt, je výsledek, který musí být hlášen.
- Doporučuje se věnovat pečlivou pozornost údajům o výkonnosti při interpretaci výsledků testu Aptima CT u asymptomatických jedinců nebo jakýchkoli jedinců z populací s nízkou prevalencí.
- Negativní výsledek nevylučuje přítomnost CT infekce, protože výsledky jsou závislé na adekvátním odběru vzorku, absenci inhibitorů a dostatku rRNA k detekci. Výsledky testu mohou být ovlivněny nesprávným odběrem vzorku, nesprávným skladováním, technickou chybou, záměnou vzorků nebo hladinou cíle pod mezí detekce testu.
- Testování endocervikálního vzorku je doporučeno pro ženy, u nichž je klinické podezření na chlamydiovou nebo gonokokovou infekci. Pokud jsou odebrány stěry Pap a endocervikální výtěry, tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt musí být odebrány před endocervikálními výtěry.

Omezení

- A. Použití tohoto testu je omezeno na personál, který byl proškolen v takových postupech. Pokud nedodržíte pokyny v této příbalové informaci, může to způsobit chybné výsledky.
- B. Účinky použití tamponu, výplachu pochvy a proměnných při odběru vzorku nebyly hodnoceny s ohledem na jejich vliv na detekci CT.
- C. Přítomnost hlenu v endocervikálních vzorcích neinterferuje s detekcí CT pomocí testu Aptima CT. Nicméně chcete-li zajistit odběr buněk infikovaných CT, měl by se odebrat vzorek cylindrických epitelálních buněk výstelky děložního hrdla. Pokud není odstraněn nadbytek hlenu, nebude zajištěn odběr vzorků těchto buněk.
- D. Odběr moči, vaginálního stěru a tekutého vzorku Pap v roztoku PreservCyt není určen jako náhrada za vyšetření hrdla děložního nebo za endocervikální vzorky při diagnostice urogenitálních infekcí žen. Pacientky mohou trpět cervicitidou, uretritidou, infekcí močových cest nebo vaginálními infekcemi v důsledku jiných příčin nebo současných infekcí způsobených jinými činiteli.
- E. Test Aptima CT není určen pro hodnocení podezření z pohlavního zneužití nebo pro jiné medicínsko-právní indikace. Pro ty pacienty, u nichž mohou mít falešně pozitivní výsledky nežádoucí psychosociální vliv, Středisko pro kontrolu a prevenci nemocí CDC doporučuje nové testování alternativní metodou (4).
- F. Spolehlivé výsledky závisí na adekvátním odběru vzorku. Vzhledem k tomu, že systém přepravy používaný v tomto testu neumožňuje mikroskopické hodnocení adekvátnosti vzorku, je třeba vyškolení lékařů v technice řádného odběru vzorků. Viz příbalová informace příslušné odběrové soupravy pro vzorky Aptima.
- G. Terapeutické selhání nebo úspěch testem Aptima CT není možné určit, protože nukleová kyselina může přetrvávat po příslušné antimikrobiální terapii.
- H. Výsledky testu Aptima CT musí být interpretovány ve spojení s jinými laboratorními a klinickými údaji, které jsou dostupné lékaři.
- I. Negativní výsledek nevylučuje možnost infekce, protože výsledky jsou závislé na adekvátním odběru vzorku. Výsledky testu mohou být ovlivněny nesprávným odběrem vzorku, technickou chybou, záměnou vzorků nebo hladinou cíle pod mezí detekce testu.
- J. Test Aptima CT podává kvalitativní výsledky. Proto není možná korelace mezi velikostí signálu pozitivního testu a počtem organismů ve vzorku.
- K. Pro klinické studie vzorků vaginálního výtěru, endocervikálního výtěru, výtěru z mužské močové trubice a vzorků moči je výkonnost pro detekci CT odvozena z populací s vysokou prevalencí. Pozitivní výsledky u populací s nízkou prevalencí musí být pozorně interpretovány s vědomím, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků může být vyšší než správných pozitivních výsledků.
- L. Pro klinické studie tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt je výkonnost testu Aptima CT pro detekci CT primárně odvozena z populací s nízkou prevalencí. Nicméně pozitivní výsledky u populací s nízkou prevalencí musí být pozorně interpretovány s vědomím, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků může být vyšší, než správných pozitivních výsledků.

- M. Výkonnost soupravy Aptima pro přenos vzorků nebyla hodnocena pro testování téhož tekutého Pap vzorku v roztoku PreservCyt jak před zpracováním testu Pap pomocí ThinPrep, tak po něm.
- N. Tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt, zpracované pomocí jiných přístrojů než procesoru ThinPrep 2000, nebyly hodnoceny pro použití v testech Aptima.
- O. Vaginální výtěry odebrané pacientkou jsou jednou z možností skríníngu žen, pokud není z jiného důvodu indikováno vyšetření pánve.
- P. Použití pacientkou odebraných vaginálních výtěrů je omezeno na zdravotnická zařízení, kde je k dispozici podpora a poradenství za účelem vysvětlení postupů a bezpečnostních opatření.
- Q. Test Aptima CT nebyl schválen pro použití s vaginálními výtěry odebranými pacientkou doma.
- R. Výkonnost se vzorky vaginálních výtěrů nebyla hodnocena u těhotných žen.
- S. Výkonnost endocervikálních a vaginálních výtěrů, výtěrů z mužské močové trubice, vzorků moči mužů a žen a tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt nebyla hodnocena u dospívajících jedinců mladších 16 let.
- T. Výkonnost systému Tigris DTS nebyla stanovena pro nadmořské výšky nad 2 240 m (7 355 stop). Další volumetrická ověření a studie specifické pro test se budou provádět před zavedením nebo schválením (nebo v jeho rámci) pro laboratoře v nadmořské výšce vyšší než 2 240 m (7 355 stop).
- U. Výkonnost systému Panther nebyla stanovena pro nadmořské výšky nad 2 000 m (6 561 stop).
- V. Neexistují důkazy degradace nukleových kyselin v roztoku PreservCyt. Pokud tekutý Pap vzorek v roztoku PreservCyt obsahuje malé množství buněčného materiálu CT, může dojít k nerovnoměrné distribuci tohoto buněčného materiálu. Při porovnání s přímým odběrem vzorku do přepravního média na výtěry Aptima, dodatečný objem roztoku PreservCyt také vede k většímu zředění materiálu vzorku. Tyto faktory mohou ovlivnit schopnost detekce malých počtů organismů v odebraném materiálu. Pokud negativní výsledky ze vzorku neodpovídají klinickému obrazu, bude možná nutné odebrat nový vzorek.
- W. Zákazníci musí nezávisle validovat přenosový proces LIS.

Výsledky klinické studie

Výkonnost testu Aptima CT byla stanovena ve dvou multicentrických klinických hodnoceních vedených v Severní Americe. V prvním klinickém hodnocení byly provedeny dvě studie. Klinické hodnocení vzorků nejdříve stanovilo citlivost, specifitu a prediktivní hodnoty testu Aptima CT ze zdravotníkem odebraných endocervikálních, vaginálních a mužských uretrálních výtěrů, pacientkou odebraných vaginálních výtěrů a ze vzorků moči mužů a žen. Druhá studie prvního klinického hodnocení hodnotila preciznost testu Aptima CT, pokud byl prováděn v souladu s pokyny NCCLS (17). Druhé klinické hodnocení stanovilo citlivost, specifitu a prediktivní hodnoty testu Aptima CT v roztoku PreservCyt (což je komponenta systému ThinPrep 2000). Tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byly také hodnoceny z hlediska preciznosti testu Aptima CT v rámci laboratoře.

Očekávané hodnoty systémů DTS**Prevalence**

Prevalence onemocnění CT u populací pacientů závisí na rizikových faktorech, jako například věk, pohlaví, přítomnost příznaků, typ ambulance a testovací metoda. Shrnutí prevalence výsledků CT podle typu vzorků zjištěné testem Aptima CT ve dvou multicentrických klinických hodnoceních se uvádí v tabulkách 1a a 1b, a to podle klinického centra a celkově.

Tabulka 1a: Prevalence C. trachomatis stanovená pomocí výsledků testu Aptima CT, dle klinického centra a celkově

Cen- trum	% (počet pozitivních/počet testovaných)											
	MS		MU		FS		FU		PVS		CVS	
1	27,0	(68/252)	25,0	(63/252)	16,5	(38/230)	17,0	(39/229)	19,2	(42/219)	19,1	(44/230)
2	27,7	(98/354)	26,6	(94/354)	35,0	(70/200)	26,5	(53/200)	30,8	(61/198)	33,0	(66/200)
3	25,0	(1/4)	25,0	(1/4)	11,4	(13/114)	8,8	(10/113)	10,8	(12/111)	11,5	(13/113)
4	N/A	N/A	N/A	N/A	11,6	(31/267)	8,1	(22/271)	9,3	(25/268)	12,2	(33/270)
5	8,0	(16/200)	8,0	(16/200)	9,0	(18/199)	7,5	(15/199)	8,0	(16/199)	10,1	(20/199)
6	22,7	(69/304)	20,0	(61/305)	14,3	(42/294)	13,2	(39/295)	15,2	(44/290)	16,2	(48/296)
7	5,8	(12/207)	6,3	(13/207)	7,8	(8/102)	9,8	(10/102)	12,7	(13/102)	8,8	(9/102)
8	N/A	N/A	N/A	N/A	8,2	(4/49)	6,1	(3/49)	12,5	(6/48)	7,8	(4/51)
Vše	20,0	(264/1 321)	18,8	(248/1 322)	15,4	(224/1 455)	13,1	(191/1 458)	15,3	(219/1 435)	16,2	(237/1 461)

MS = mužský uretrální výtěr; MU = moč mužů; FS = endocervikální výtěr žen; FU = moč žen; PVS = pacientkou odebraný vaginální výtěr; CVS = zdravotníkem odebraný vaginální výtěr.

Tabulka 1b: Prevalence C. trachomatis stanovená pomocí výsledků testu Aptima CT s použitím tekutých vzorků Pap v roztoku PreservCyt, dle klinického centra a celkově

Centrum	% (počet pozitivních/počet testovaných)	
1	17,0	(17/100)
2	3,2	(4/124)
3	7,4	(35/475)
4	4,2	(12/287)
5	5,4	(16/297)
6	5,5	(20/364)
Vše	6,3	(104/1 647)

Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty pro hypotetickou míru prevalence v Severní Americe

Odhadnuté pozitivní a negativní prediktivní hodnoty (PPH a NPH) pro různou hypotetickou míru prevalence při použití testu Aptima CT jsou uvedeny v tabulce 2. Tyto výpočty jsou založeny na hypotetické prevalenci a celkové citlivosti a specifitě odhadované z infekčního stavu pacienta pro tři multicentrická klinická hodnocení. Celková citlivost a specifita pro CT byla 96,7 % resp. 96,8 %, (tabulka 2). Aktuální hodnoty PPH a NPH zdravotníkem odebraných endocervikálních, vaginálních a mužských uretrálních výtěrů, pacientkou odebraných vaginálních výtěrů a vzorků moči mužů a žen jsou uvedeny v tabulce 6, pro

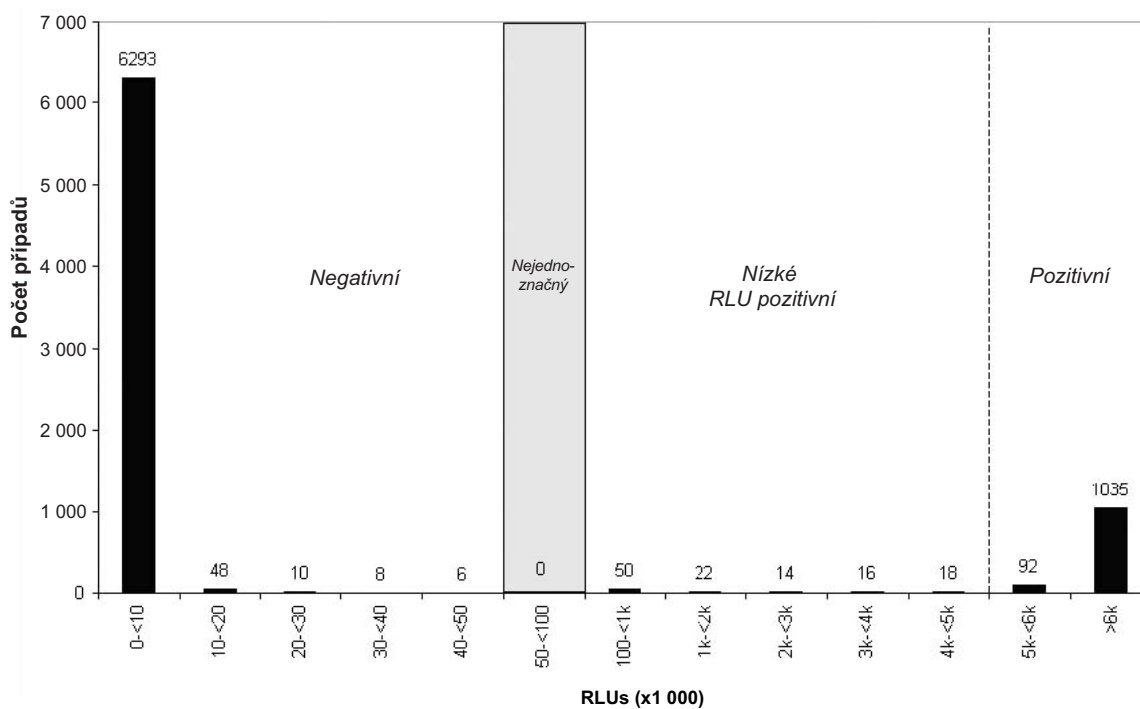
každé klinické centrum a celkově. Aktuální hodnoty PPH a NPH pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt jsou uvedeny v tabulce 6a.

Tabulka 2: Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty pro hypotetickou míru prevalence

Hypotetická míra prevalence (%)	Citlivost (%)	Specifická (%)	PPH (%)	NPH (%)
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

Distribuce RLU v testu Aptima CT

Obrázek 4 ilustruje distribuci RLU pro test Aptima CT pro všechny typy vzorků testovaných v rámci klinické studie, s výjimkou tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt. Tabulka 3 uvádí distribuci RLU v souhrnu pozitivních výsledků a v souhrnu negativních výsledků, a počet falešně pozitivních a falešně negativních výsledků u všech typů vzorků s výjimkou tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt, a to ve vztahu k infekčnímu stavu pacienta. U některých typů vzorků existuje trend ke zvýšenému podílu správných pozitivních výsledků se zvyšujícími se hodnotami RLU.



Obrázek 4. Frekvence distribuce RLU pro test Aptima CT

Tabulka 3: Distribuce RLU v testu Aptima CT

	RLU (x1 000)												
	0 < 10	10 < 20	20 < 30	30 < 40	40 < 50	50 < 100	100 < 1000	1000 < 2000	2000 < 3000	3000 < 4000	4000 < 5000	5000 < 6000	> 6000
Celkem pozitivní						0	50	22	14	16	18	92	1 035
Celkem falešně pozitivní						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
Celkem negativní	6 293	48	10	8	6	0							
Celkem falešně negativní	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 = zdravotníkem odebraný vaginální výtěr; **PVS** = pacientkou odebraný vaginální výtěr, pouze od asymptomatických pacientek; **FS** = endocervikální výtěr žen; **MS** = mužský uretrální výtěr; **FU** = moč žen; **MU** = moč mužů.

Stínovaný sloupec obsahuje nejednoznačnou oblast.

Klinická výkonnost systémů DTS

Viz *Shoda klinických vzorků systému Tigris DTS* následující po části *Analytická výkonnost DTS systémů*, kde je uvedena klinická výkonnost specifická pro systém Tigris DTS.

Klinická studie vzorků endocervikálních výtěrů, mužských uretrálních výtěrů, vaginálních výtěrů a vzorků moči

Od 2 787 symptomatických i asymptomatických pacientů obou pohlaví, kteří se dostavili do gynekologicko-porodnických ambulancí, ambulancí pro pohlavně přenosné choroby, ambulancí pro adolescenty a ambulancí pro plánování rodičovství v osmi geograficky odlišných klinických centrech v Severní Americe, byly získány zdravotníkem odebrané endocervikální, vaginální a mužské uretrální výtěry a pacienty odebrané vaginální výtěry a vzorky moči žen a mužů. Pacienti byli klasifikováni jako symptomatictí, pokud udávali příznaky jako je výtok, dysurie a pánevní bolesti. Pacienti byli klasifikováni jako asymptomatictí, pokud nehlásili žádné příznaky. Z 1 392 asymptomatických pacientů zařazených do studie byli 2 mladší 16 let, 237 bylo ve věku od 16 do 20 let, 423 bylo ve věku od 21 do 25 let a 730 bylo starších než 25 let. Z 1 395 symptomatických pacientů zařazených do studie bylo 211 ve věku 16 až 20 let, 494 bylo ve věku od 21 do 25 let a 690 bylo starších než 25 let.

U každého z 1 322 mužských pacientů, kteří se kvalifikovali pro studii, byly odebrány tři vzorky. U každé z 1 465 pacientek, které se kvalifikovaly pro studii, bylo odebráno pět vzorků. U mužských pacientů byly odebrány dva randomizované uretrální výtěry a poté jeden vzorek moči. U pacientek byl odebrán jeden vzorek moči, poté jeden vaginální výtěr odebraný pacientkou, jeden vaginální výtěr odebraný zdravotníkem a dva randomizované endocervikální výtěry. Výsledky testu Aptima CT a testu Aptima Combo 2 pro CT byly generovány ze dvou vaginálních výtěrů, jednoho endocervikálního výtěru, jednoho mužského uretrálního výtěru a jednoho alikvotu vzorku moči jak od mužů, tak od žen. Zbývající endocervikální výtěry, mužské uretrální výtěry a alikvoty vzorků moči mužů a žen byly testovány pomocí jiného komerčně dostupného testu NAAT. Endocervikální a mužské uretrální výtěry a vzorky moči mužů a žen testované v testu Aptima Combo 2 a v dalším komerčně dostupném testu NAAT byly použity jako referenční NAAT pro stanovení infekčního stavu pro každého pacienta. Testování vzorku bylo provedeno buď v místě zařazení pacientky, nebo externím testovacím pracovištěm.

Všechny výpočty výkonnosti byly založeny na celkovém počtu výsledků endocervikálních, vaginálních, mužských uretrálních výtěrů a vzorků moči od mužů a žen pro test Aptima CT ve srovnání s algoritmem infekčního stavu pacienta pro každé pohlaví. V algoritmu bylo označení jedince jako infikovaného nebo neinfikovaného CT založeno na výsledcích endocervikálního výtěru a vzorků moči z komerčně dostupného testu Aptima Combo 2 a dalšího komerčně dostupného NAAT. Pacienti byly považováni za infikované CT, pokud dva ze čtyř endocervikálních výtěrů a vzorků moči byly testovány jako pozitivní testem Aptima Combo 2 a dalším referenčním NAAT (jeden vzorek pozitivní v každém NAAT). Pacientky byly považovány za neinfikované, pokud méně než dva výsledky referenčního NAAT byly pozitivní.

Pro výpočet citlivosti a specifity bylo použito celkem 8 406 výsledků z testu Aptima CT. Citlivost a specifita pro CT dle pohlaví, typu vzorku a stavu příznaků se nachází v tabulce 4. Tabulka 6 ukazuje citlivost, specifitu a prediktivní hodnoty testu Aptima CT ve srovnání s infekčním stavem pacienta pro každé klinické centrum a celkově. Tabulky 7a-7d shrnují počet výsledků od symptomatických a asymptomatických jedinců označených za infikované nebo neinfikované CT podle algoritmu infekčního stavu pacienta.

Z celkového počtu 2 787 registrovaných účastníků mělo 13 jedinců neznámý infekční stav CT. Pacienti byli označeni neznámým infekčním stavem pacienta, pokud chybějící výsledky bránily jednoznačnému stanovení infekčního stavu. Výsledky těchto pacientů nebyly zařazeny do žádného výpočtu výkonnosti. Z 8 452 výsledků testu Aptima CT v multicentrické klinické studii bylo malé procento (8, 0,09 %) vzorků, které byly nejprve testovány jako neplatné pro CT. V opakovaném testu nebyly žádné nejednoznačné nebo neplatné výsledky.

Tabulka 4: Citlivost a specifická testu Aptima CT ve vztahu k infekčnímu stavu pacienta podle stavu příznaků a celkově

Vzorek	Stav příznaků	N	TP	FP	TN	FN	Citlivost (95 % interval spolehlivosti)	Specifická (95 % interval spolehlivosti)	
Muž	Výtěr	Sympt.	576	131	23 ^a	418	4	97,0 (92,6 - 99,2)	94,8 (92,3 - 96,7)
		Asympt.	745	90	20 ^b	634	1	98,9 (94,0 - 100)	96,9 (95,3 - 98,1)
		Vše	1 321	221	43 ^c	1 052	5	97,8 (94,9 - 99,3)	96,1 (94,7 - 97,1)
Moč	Sympt.	576	127	14 ^d	427	8	94,1 (88,7 - 97,4)	96,8 (94,7 - 98,3)	
	Asympt.	746	90	17 ^e	638	1	98,9 (94,0 - 100)	97,4 (95,9 - 98,5)	
	Vše	1 322	217	31 ^f	1 065	9	96,0 (92,6 - 98,2)	97,2 (96,0 - 98,1)	
Žena	Výtěr	Sympt.	807	114	28 ^g	664	1	99,1 (95,3 - 100)	96,0 (94,2 - 97,3)
		Asympt.	636	59	22 ^h	553	2	96,7 (88,7 - 99,6)	96,2 (94,3 - 97,6)
		Vše	1 443	173	50 ⁱ	1 217	3	98,3 (95,1 - 99,6)	96,1 (94,8 - 97,1)
	Moč	Sympt.	809	107	13 ^j	682	7	93,9 (87,8 - 97,5)	98,1 (96,8 - 99,0)
		Asympt.	639	58	13 ^k	565	3	95,1 (86,3 - 99,0)	97,8 (96,2 - 98,8)
		Vše	1 448	165	26 ^l	1 247	10	94,3 (89,7 - 97,2)	98,0 (97,0 - 98,7)
Odebraný pacientkou	Vaginální výtěr	Asympt.	629	60	25 ^m	543	1	98,4 (91,2 - 100)	95,6 (93,6 - 97,1)
Odebraný zdravotníkem	Vaginální výtěr	Sympt.	811	111	33 ⁿ	663	4	96,5 (91,3 - 99,0)	95,3 (93,4 - 96,7)
		Asympt.	638	60	32 ^o	545	1	98,4 (91,2 - 99,0)	94,5 (92,3 - 96,2)
		Vše	1 449	171	65 ^p	1 208	5	97,2 (93,5 - 99,1)	94,9 (93,5 - 96,0)

TP = správný pozitivní; FP = falešně pozitivní; TN = správný negativní; FN = falešně negativní.

Výsledky CT v testu Aptima Combo 2: počet pozitivních/počet testovaných vzorků 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.

Klinická studie tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt

Prospektivní multicentrická klinická studie byla provedena za účelem vyhodnocení použití roztoku PreservCyt (součást systému ThinPrep 2000) jako alternativního média pro gynekologické vzorky k detekci CT testem Aptima CT. V klinické studii bylo hodnoceno tisíc šest set čtyřicet sedm (1 647) symptomatických a asymptomatických žen, které se dostavily na gynekologicko-porodnickou ambulanci, ambulanci pro plánování rodičovství, ambulanci pro veřejné zdraví, ženskou ambulanci a ambulanci pro pohlavně přenosné choroby. Z 1 647 dostupných pacientek bylo 1 288 asymptomatických a 359 symptomatických. Pacienti byli zařazeni z center s prevalencí CT v rozsahu od 2,8 % do 14,0 %.

U každé pacientky, která se kvalifikovala pro studii, byly odebrány dva vzorky: jeden tekutý Pap vzorek v roztoku PreservCyt a jeden endocervikální výtěr. Tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byly odebrány pomocí špachtle/cytologického kartáčku nebo metličky na odběr cervikálních vzorků. Distribuce typu cervikálního odběrového prostředku je shrnuta v tabulce 5 podle místa odběru vzorku a celkově.

Tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byly zpracovány v souladu s *Návodem k obsluze procesoru ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* a příbalovou informací k soupravě Aptima pro přenos vzorků. Po zpracování tekutého Pap vzorku v roztoku PreservCyt procesorem ThinPrep 2000 byl vzorek přenesen do soupravy Aptima pro přenos vzorků k testování testem Aptima CT.

Citlivost a specifická testu Aptima CT pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byla vypočtena porovnáním výsledků s algoritmem infekčního stavu pacienta. Algoritmus zahrnoval výsledky testů Aptima Combo 2 a Aptima CT z endocervikálních výtěrů. Pro klasifikaci pacientky jako infikované bylo požadováno, aby oba referenční testy NAAT byly pozitivní. Pro klasifikaci pacientky jako neinfikované bylo požadováno, aby alespoň jeden referenční test NAAT byl negativní. Tabulka 7e shrnuje frekvenci výsledků pro dva referenční testy NAAT.

Tabulka 5a uvádí citlivost a specifitu pro test Aptima CT podle stavu příznaků a celkově. Celková citlivost byla 95,6 % (86/90). U symptomatických a asymptomatických pacientek byla citlivost 96,7 % (29/30) resp. 95,0 % (57/60). Celková specifita byla 98,8 % (1 539/ 1 557). U symptomatických a asymptomatických jedinců byla specifita 98,8 % (325/329), resp. 98,9 % (1 214/1 228).

Tabulka 6a uvádí citlivost a specifitu pro test Aptima CT podle místa odběru vzorku a celkově. Citlivost byla v rozsahu od 92,9 % to 100 %. Specifita byla v rozsahu od 96,5 % do 100 %.

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

Použitý prostředek pro odběr cervikálních vzorků	Místo klinického odběru						Celkem
	1	2	3	4	5	6	
Špachtle/cytologický kartáček	0	124	475	287	57	364	1 307
Prostředek typu metličky	100	0	0	0	240	0	340

Tabulka 5a: Citlivost a specifická testu Aptima CT ve vztahu k infekčnímu stavu pacienta, pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt, podle stavu příznaků a celkově

Vzorek	Výsledek Aptima CT v roztoku PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Citlivost (%) (95 % interval spolehlivosti)	Specifická (%) (95 % interval spolehlivosti)
Sympt.	Pozitivní	29	0	1	3	96,7 (29/30) (82,8 – 99,9)	98,8 (325/329) (96,9 – 99,7)
	Negativní	1	3	3	319		
	Celkem	30	3	4	322		
Asympt.	Pozitivní	57	0	1	13	95,0 (57/60) (86,1 – 99,0)	98,9 (1 214/1 228) (98,1 – 99,4)
	Negativní	3	2	11	1 201		
	Celkem	60	2	12	1 214		
Vše	Pozitivní	86	0	2	16	95,6 (86/90) (89,0 – 98,8)	98,8 (1 539/1 557) (98,2 – 99,3)
	Negativní	4	5	14	1 520		
	Celkem	90	5	16	1 536		

+/+ = pozitivní výsledek endocervikálního výtěru v testu Aptima Combo 2/pozitivní výsledek vzorku endocervikálního výtěru v testu Aptima CT.

+/- = pozitivní výsledek endocervikálního výtěru v testu Aptima Combo 2/negativní výsledek vzorku endocervikálního výtěru v testu Aptima CT.

-/+ = negativní výsledek endocervikálního výtěru v testu Aptima Combo 2/pozitivní výsledek vzorku endocervikálního výtěru v testu Aptima CT.

-/- = negativní výsledek endocervikálního výtěru v testu Aptima Combo 2/negativní výsledek vzorku endocervikálního výtěru v testu Aptima CT.

Tabulka 6: Citlivost a specifická a prediktivní hodnoty testu Aptima CT ve vztahu k infekčnímu stavu pacienta podle klinického centra a celkově

Vzorek	Centrum	N	TP	FP	TN	FN	Prev. (%)	Citlivost (95 % interval spolehlivosti)		Specifická (95 % interval spolehlivosti)		PPH (%)	NPH (%)
Výtěr	1	252	54	14	183	1	21,8	98,2	(90,3 - 100)	92,9	(88,4 - 96,1)	79,4	99,5
	2	354	83	15	252	4	24,6	95,4	(88,6 - 98,7)	94,4	(90,9 - 96,8)	84,7	98,4
	3	4	1	0	3	0	25,0	100	(2,5 - 100)	100	(29,2 - 100)	100	100
	4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	5	200	12	4	184	0	6,0	100	(73,5 - 100)	97,9	(94,6 - 99,4)	75,0	100
	6	304	59	10	235	0	19,4	100	(93,9 - 100)	95,9	(92,6 - 98,0)	85,5	100
	7	207	12	0	195	0	5,8	100	(73,5 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
	8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	Vše	1 321	221	43	1 052	5	17,1	97,8	(94,9 - 99,3)	96,1	(94,7 - 97,1)	83,7	99,4
Muž	1	252	54	9	188	1	21,8	98,2	(90,3 - 100)	95,4	(91,5 - 97,9)	85,7	99,5
	2	354	85	9	258	2	24,6	97,7	(91,9 - 99,7)	96,6	(93,7 - 98,4)	90,4	99,2
	3	4	1	0	3	0	25,0	100	(2,5 - 100)	100	(29,2 - 100)	100	100
	4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	5	200	12	4	184	0	6,0	100	(73,5 - 100)	97,9	(94,6 - 99,4)	75,0	100
	6	305	53	8	238	6	19,3	89,8	(79,2 - 96,2)	96,7	(93,7 - 98,6)	86,9	97,5
	7	207	12	1	194	0	5,8	100	(73,5 - 100)	99,5	(97,2 - 100)	92,3	100
	8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	Vše	1 322	217	31	1 065	9	17,1	96,0	(92,6 - 98,2)	97,2	(96,0 - 98,1)	87,5	99,2
Výtěr	1	228	36	2	190	0	15,8	100	(90,3 - 100)	99,0	(96,3 - 99,9)	94,7	100
	2	198	52	18	128	0	26,3	100	(93,2 - 100)	87,7	(81,2 - 92,5)	74,3	100
	3	114	9	4	101	0	7,9	100	(66,4 - 100)	96,2	(90,5 - 99,0)	69,2	100
	4	260	19	11	229	1	7,7	95,0	(75,1 - 99,9)	95,4	(91,9 - 97,7)	63,3	99,6
	5	199	13	5	181	0	6,5	100	(75,3 - 100)	97,3	(93,8 - 99,1)	72,2	100
	6	294	33	9	252	0	11,2	100	(89,4 - 100)	96,6	(93,6 - 98,4)	78,6	100
	7	102	8	0	92	2	9,8	80,0	(44,4 - 97,5)	100	(96,1 - 100)	100	97,9
	8	48	3	1	44	0	6,3	100	(29,2 - 100)	97,8	(88,2 - 99,9)	75,0	100
	Vše	1 443	173	50	1 217	3	12,2	98,3	(95,1 - 99,6)	96,1	(94,8 - 97,1)	77,6	99,8
Žena	1	227	34	5	187	1	15,4	97,1	(85,1 - 99,9)	97,4	(94,0 - 99,1)	87,2	99,5
	2	198	51	2	144	1	26,3	98,1	(89,7 - 100)	98,6	(95,1 - 99,8)	96,2	99,3
	3	113	9	1	103	0	8,0	100	(66,4 - 100)	99,0	(94,8 - 100)	90,0	100
	4	265	18	4	241	2	7,5	90,0	(68,3 - 98,8)	98,4	(95,9 - 99,6)	81,8	99,2
	5	199	11	4	182	2	6,5	84,6	(54,6 - 98,1)	97,8	(94,6 - 99,4)	73,3	98,9
	6	295	29	10	252	4	11,2	87,9	(71,8 - 96,6)	96,2	(93,1 - 98,2)	74,4	98,4
	7	102	10	0	92	0	9,8	100	(69,2 - 100)	100	(96,1 - 100)	100	100
	8	49	3	0	46	0	6,1	100	(29,2 - 100)	100	(92,3 - 100)	100	100
	Vše	1 448	165	26	1 247	10	12,1	94,3	(89,7 - 97,2)	98,0	(97,0 - 98,7)	86,4	99,2

Tabulka 6: Citlivost a specifická a prediktivní hodnoty testu Aptima CT ve vztahu k infekčnímu stavu pacienta podle klinického centra a celkově (pokračování)

Vzorek	Centrum	N	TP	FP	TN	FN	Prev. (%)	Citlivost (95 % interval spolehlivosti)	Specifická (95 % interval spolehlivosti)	PPH (%)	NPH (%)	
Odebraný pacientkou	Vaginální výtěr	1	70	14	4	52	0	20,0	100 (76,8 - 100)	92,9 (82,7 - 98,0)	77,8	100
		2	46	13	4	29	0	28,3	100 (75,3 - 100)	87,9 (71,8 - 96,6)	76,5	100
		3	45	4	2	39	0	8,9	100 (39,8 - 100)	95,1 (83,5 - 99,4)	66,7	100
		4	152	6	3	142	1	4,6	85,7 (42,1 - 99,6)	97,9 (94,1 - 99,6)	66,7	99,3
		5	130	7	3	120	0	5,4	100 (59,0 - 100)	97,6 (93,0 - 99,5)	70,0	100
		6	75	8	5	62	0	10,7	100 (63,1 - 100)	92,5 (83,4 - 97,5)	61,5	100
		7	68	5	2	61	0	7,4	100 (47,8 - 100)	96,8 (89,0 - 99,6)	71,4	100
		8	43	3	2	38	0	7,0	100 (29,2 - 100)	95,0 (83,1 - 99,4)	60,0	100
		Vše	629	60	25	543	1	9,7	98,4 (91,2 - 100)	95,6 (93,6 - 97,1)	70,6	99,8
Odebraný zdravotníkem	Vaginální výtěr	1	228	36	8	184	0	15,8	100 (90,3 - 100)	95,8 (92,0 - 98,2)	81,8	100
		2	198	50	16	130	2	26,3	96,2 (86,8 - 99,5)	89,0 (82,8 - 93,6)	75,8	98,5
		3	113	9	4	100	0	8,0	100 (66,4 - 100)	96,2 (90,4 - 98,9)	69,2	100
		4	263	18	14	229	2	7,6	90,0 (68,3 - 98,8)	94,2 (90,5 - 96,8)	56,3	99,1
		5	199	13	7	179	0	6,5	100 (75,3 - 100)	96,2 (92,4 - 98,5)	65,0	100
		6	296	33	15	248	0	11,1	100 (89,4 - 100)	94,3 (90,8 - 96,8)	68,8	100
		7	102	9	0	92	1	9,8	90,0 (55,5 - 99,7)	100 (96,1 - 100)	100	98,9
		8	50	3	1	46	0	6,0	100 (29,2 - 100)	97,9 (88,7 - 99,9)	75,0	100
		Vše	1 449	171	65	1 208	5	12,1	97,2 (93,5 - 99,1)	94,9 (93,5 - 96,0)	72,5	99,6

TP = správný pozitivní; FP = falešně pozitivní; TN = správný negativní; FN = falešně negativní.

Tabulka 6a: Citlivost, specifická a prediktivní hodnoty testu Aptima CT ve vztahu k infekčnímu stavu pacienta, pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt, podle klinického centra a celkově

Centrum	Výsledek Aptima CT v roztoku PreservCyt	Výsledek				Prev. (%)	Citlivost (%) (95 % interval spolehlivosti)	Specifická (%) (95 % interval spolehlivosti)	PPH (%)	NPH (%)
		+/+	+/-	-/+	-/-					
1	Pozitivní	14	0	1	2	14,0	100 (14/14) (76,8 – 100)	96,5 (83/86) (90,1 – 99,3)	82,4	100
	Negativní	0	0	0	83					
	Celkem	14	0	1	85					
2	Pozitivní	4	0	0	0	3,2	100 (4/4) (39,8 – 100)	100 (120/120) (97,0 – 100)	100	100
	Negativní	0	0	2	118					
	Celkem	4	0	2	118					
3	Pozitivní	29	0	0	6	6,5	93,5 (29/31) (78,6 – 99,2)	98,6 (438/444) (97,1 – 99,5)	82,9	99,5
	Negativní	2	0	2	436					
	Celkem	31	0	2	442					
4	Pozitivní	8	0	0	4	2,8	100 (8/8) (63,1 – 100)	98,6 (275/279) (96,4 – 99,6)	66,7	100
	Negativní	0	3	1	271					
	Celkem	8	3	1	275					
5	Pozitivní	13	0	0	3	4,7	92,9 (13/14) (66,1 – 99,8)	98,9 (280/283) (96,9 – 99,8)	81,3	99,6
	Negativní	1	1	4	275					
	Celkem	14	1	4	278					
6	Pozitivní	18	0	1	1	5,2	94,7 (18/19) (74,0 – 99,9)	99,4 (343/345) (97,9 – 99,9)	90,0	99,7
	Negativní	1	1	5	337					
	Celkem	19	1	6	338					
Vše	Pozitivní	86	0	2	16	5,5	95,6 (86/90) (89,0 – 98,8)	98,8 (1 539/1 557) (98,2 – 99,3)	82,7	99,7
	Negativní	4	5	14	1 520					
	Celkem	90	5	16	1 536					

+/+ = pozitivní výsledek endocervikálního výtěru v testu Aptima Combo 2/pozitivní výsledek vzorku endocervikálního výtěru v testu Aptima CT.

+/- = pozitivní výsledek endocervikálního výtěru v testu Aptima Combo 2/negativní výsledek vzorku endocervikálního výtěru v testu Aptima CT.

-/+ = negativní výsledek endocervikálního výtěru v testu Aptima Combo 2/pozitivní výsledek vzorku endocervikálního výtěru v testu Aptima CT.

-/- = negativní výsledek endocervikálního výtěru v testu Aptima Combo 2/negativní výsledek vzorku endocervikálního výtěru v testu Aptima CT.

Tabulka 7a: Výsledky vzorků mužských uretrálních výtěrů a moči od jedinců označených jako infikovaní i neinfikovaní *C. trachomatis*, podle infekčního stavu pacienta

Pacient Infikovaná Stav	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT		Stav příznaků		Celkem
	MS	MU	MS	MU	MS	MU	Sympt.	Asympt.	
Infikov.	+	+	+	+	+	+	96	68	164
Infikov.	+	+	+	+	+	-	5	1	6
Infikov.	+	+	+	-	+	+	11	7	18
Infikov.	+	+	-	+	+	+	13	11	24
Infikov.	+	+	-	+	+	-	1	0	1
Infikov.	+	+	-	+	-	+	1	0	1
Infikov.	+	-	+	+	+	+	2	0	2
Infikov.	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infikov.	+	-	+	-	+	-	1	0	1
Infikov.	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infikov.	-	+	-	+	+	+	0	2	2
Infikov.	-	+	-	+	-	+	3	1	4
Infikov.	-	+	=	+	+	+	0	1	1
Neinfikov.	+	+	-	-	+	+	4	4	8
Neinfikov.	+	+	-	-	-	+	1	0	1
Neinfikov.	+	-	-	-	+	+	1	4	5
Neinfikov.	+	-	-	-	+	-	4	6	10
Neinfikov.	+	-	-	-	-	+	1	0	1
Neinfikov.	+	-	-	-	-	-	3	0	3
Neinfikov.	-	+	-	-	+	+	1	0	1
Neinfikov.	-	+	-	-	-	+	0	2	2
Neinfikov.	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Neinfikov.	-	-	+	+	+	+	1	0	1
Neinfikov.	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Neinfikov.	-	-	-	-	+	+	1	1	2
Neinfikov.	-	-	-	-	+	-	11	5	16
Neinfikov.	-	-	-	-	-	+	4	4	8
Neinfikov.	-	-	-	-	-	-	403	618	1 021
Neinfikov.	-	-	-	N/A	-	+	0	2	2
Neinfikov.	-	-	-	N/A	-	-	1	2	3
Neinfikov.	-	-	-	=	-	-	0	4	4
Neinfikov.	-	-	=	-	-	-	2	0	2
Neinfikov.	N/A	-	-	-	N/A	-	0	1	1
Celkem							576	746	1 322

N/A = vzorek nebyl získán nebo není k dispozici pro testování. Symbol rovná se (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitý výsledek při opakování testu.

MS = výtěr z mužské uretry; **MU** = moč mužů.

Tabulka 7b: Výsledky vzorků ženských endocervikálních výtěrů a vzorků moči od jedinců označených jako infikovaní i neinfikovaní *C. trachomatis*, podle infekčního stavu pacienta

Infekční stav pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT		Stav příznaků		Celkem
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Sympt.	Asympt.	
Infikov.	+	+	+	+	+	+	80	43	123
Infikov.	+	+	+	+	+	-	1	1	2
Infikov.	+	+	+	-	+	+	10	5	15
Infikov.	+	+	+	=	+	+	1	0	1
Infikov.	+	+	-	+	+	+	9	3	12
Infikov.	+	-	+	+	+	+	3	1	4
Infikov.	+	-	+	+	+	-	2	2	4
Infikov.	+	-	+	-	+	+	2	0	2
Infikov.	+	-	+	-	+	-	4	0	4
Infikov.	+	-	+	-	+	N/A	1	0	1
Infikov.	-	+	+	+	+	+	0	1	1
Infikov.	-	+	-	+	+	+	1	3	4
Infikov.	-	+	-	+	-	+	1	2	3
Neinfikov.	+	+	-	-	+	+	1	2	3
Neinfikov.	+	+	-	N/A	+	+	1	0	1
Neinfikov.	+	-	-	-	+	+	0	2	2
Neinfikov.	+	-	-	-	+	-	12	7	19
Neinfikov.	+	-	-	-	-	-	0	1	1
Neinfikov.	-	+	-	-	+	+	1	0	1
Neinfikov.	-	+	-	-	-	+	4	3	7
Neinfikov.	-	+	-	-	-	-	0	1	1
Neinfikov.	-	-	+	-	-	-	1	1	2
Neinfikov.	-	-	-	+	-	-	1	2	3
Neinfikov.	-	-	-	-	+	+	0	2	2
Neinfikov.	-	-	-	-	+	-	11	9	20
Neinfikov.	-	-	-	-	-	+	5	4	9
Neinfikov.	-	-	-	-	-	-	636	526	1 162
Neinfikov.	-	-	-	-	-	N/A	1	0	1
Neinfikov.	-	-	-	N/A	-	-	2	3	5
Neinfikov.	-	-	-	=	-	-	12	10	22
Neinfikov.	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Neinfikov.	-	N/A	-	-	-	N/A	1	1	2
Neinfikov.	N/A	-	-	-	N/A	-	5	4	9
Neinfikov.	=	-	-	-	+	+	1	0	1
Neinfikov.	=	-	-	-	+	-	1	0	1
Celkem							812	640	1 452

N/A = vzorek nebyl získán nebo není k dispozici pro testování. Symbol rovná se (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitý výsledek při opakování testu.

FS = ženské endocervikální výtěry; **FU** = moč žen. **Sympt.** = symptomatictí; **Asympt.** = asymptomatictí.

Tabulka 7c: Výsledky vzorků vaginálních výtěrů odebraných pacientkou (asympt.) od pacientek označených jako infikované i neinfikované *C. trachomatis*, podle infekčního stavu pacienta

Infekční stav pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT	Celkem
	FS	FU	FS	FU	PVS	
Infikov.	+	+	+	+	+	44
Infikov.	+	+	+	-	+	5
Infikov.	+	+	-	+	+	3
Infikov.	+	-	+	+	+	3
Infikov.	-	+	+	+	+	1
Infikov.	-	+	-	+	+	4
Infikov.	-	+	-	+	-	1
Neinfikov.	+	+	-	-	+	2
Neinfikov.	+	-	-	-	+	4
Neinfikov.	+	-	-	-	+	1
Neinfikov.	+	-	-	-	-	2
Neinfikov.	+	-	-	-	-	3
Neinfikov.	-	+	-	-	+	2
Neinfikov.	-	+	-	-	-	2
Neinfikov.	-	-	+	-	-	1
Neinfikov.	-	-	-	+	-	2
Neinfikov.	-	-	-	-	+	5
Neinfikov.	-	-	-	-	+	10
Neinfikov.	-	-	-	-	-	15
Neinfikov.	-	-	-	-	-	500
Neinfikov.	-	-	-	-	-	1
Neinfikov.	-	-	-	-	N/A	1
Neinfikov.	-	-	-	-	N/A	9
Neinfikov.	-	-	-	N/A	-	2
Neinfikov.	-	-	-	N/A	N/A	1
Neinfikov.	-	-	-	=	-	1
Neinfikov.	-	-	-	=	-	8
Neinfikov.	-	-	-	=	-	1
Neinfikov.	-	-	=	-	-	1
Neinfikov.	-	N/A	-	-	-	1
Neinfikov.	N/A	-	-	-	+	1
Neinfikov.	N/A	-	-	-	-	3
Celkem						640

N/A = vzorek nebyl získán nebo není k dispozici pro testování. Symbol rovná se (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitý výsledek při opakování testu.

FS = endocervikální výtěr žen; FU = moč žen; CVS = zdravotníkem odebraný vaginální výtěr; PVS = pacientkou (asympt.) odebraný vaginální výtěr.

Tabulka 7d: Výsledky vzorků vaginálních výtěrů odebraných zdravotníkem od pacientek označených jako infikované i neinfikované *C. trachomatis*, podle infekčního stavu pacienta

Infekční stav pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima CT	Stav příznaků		Celkem
	FS	FU	FS	FU	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infikov.	+	+	+	+	+	76	44	120
Infikov.	+	+	+	+	-	2	0	2
Infikov.	+	+	+	+	+	2	0	2
Infikov.	+	+	+	+	+	1	0	1
Infikov.	+	+	+	-	+	8	5	13
Infikov.	+	+	+	-	-	1	0	1
Infikov.	+	+	+	-	+	1	0	1
Infikov.	+	+	+	=	+	1	0	1
Infikov.	+	+	-	+	+	9	3	12
Infikov.	+	-	+	+	+	5	3	8
Infikov.	+	-	+	-	+	7	0	7
Infikov.	-	+	+	+	+	0	1	1
Infikov.	-	+	-	+	+	1	4	5
Infikov.	-	+	-	+	-	1	0	1
Infikov.	-	+	-	+	-	0	1	1
Neinfikov.	+	+	-	-	+	1	2	3
Neinfikov.	+	+	-	N/A	+	1	0	1
Neinfikov.	+	-	-	-	+	3	4	7
Neinfikov.	+	-	-	-	-	0	1	1
Neinfikov.	+	-	-	-	+	2	2	4
Neinfikov.	+	-	-	-	-	5	3	8
Neinfikov.	+	-	-	-	+	1	0	1
Neinfikov.	+	-	-	-	-	1	0	1
Neinfikov.	-	+	-	-	+	5	2	7
Neinfikov.	-	+	-	-	-	0	2	2
Neinfikov.	-	-	+	-	-	1	1	2
Neinfikov.	-	-	-	+	-	1	2	3
Neinfikov.	-	-	-	-	+	4	5	9
Neinfikov.	-	-	-	-	-	6	10	16
Neinfikov.	-	-	-	-	+	16	15	31
Neinfikov.	-	-	-	-	-	614	500	1 114
Neinfikov.	-	-	-	-	N/A	0	1	1
Neinfikov.	-	-	-	-	+	0	1	1
Neinfikov.	-	-	-	-	-	13	9	22
Neinfikov.	-	-	-	N/A	-	2	2	4
Neinfikov.	-	-	-	N/A	-	0	1	1
Neinfikov.	-	-	-	=	+	0	1	1
Neinfikov.	-	-	-	=	-	12	8	20
Neinfikov.	-	-	-	=	N/A	0	1	1
Neinfikov.	-	-	=	-	-	1	1	2
Neinfikov.	-	N/A	-	-	-	0	1	1
Neinfikov.	-	N/A	-	-	N/A	1	0	1
Neinfikov.	N/A	-	-	-	-	0	1	1
Neinfikov.	N/A	-	-	-	-	5	3	8
Neinfikov.	=	-	-	-	-	2	0	2
Celkem						812	640	1 452

N/A = vzorek nebyl získán nebo není k dispozici pro testování. Symbol rovná se (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitý výsledek při opakování testu.

FS = endocervikální výtěr žen; **FU** = moč žen; **CVS** = zdravotníkem odebraný vaginální výtěr. **Sympt.** = symptomatické; **Asympt.** = asymptomatické.

Tabulka 7e: Výsledky infekčního stavu pacienta z klinické studie tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt pro *C. trachomatis*

Infekční stav pacienta	Endocervikální výtěr		Stav příznaků	
	Test Aptima Combo 2	Test Aptima CT	Sympt.	Asympt.
Infikov.	Pozitivní	Pozitivní	30	60
Neinfikov.	Negativní	Negativní	322	1 214
Neinfikov.	Negativní	Pozitivní	4	12
Neinfikov.	Pozitivní	Negativní	3	2
Celkem			359	1 288

Distribuce RLU kontrol Aptima

Distribuce jednotek RLU pro pozitivní kontrolu Aptima GC/negativní kontrolu CT a pozitivní kontrolu Aptima CT/negativní kontrolu GC ze všech cyklů testu Aptima CT provedených během studií klinických vzorků je uvedena v tabulce 8.

Tabulka 8: Distribuce RLU pro kontroly Aptima ve studiích klinických vzorků zahrnujících endocervikální a vaginální výtěry, mužské uretrální výtěry, vzorky moči mužů a žen a tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt

Kontrola	Statistika	(RLU x1 000)	
		Klinická studie výtěrů a vzorků moči	Klinická studie tekutého Pap vzorku v roztoku PreservCyt
Pozitivní kontrola GC/negativní kontrola CT	N	198	209
	Průměr	0,89	1,22
	Směrodatná odchylka	2,94	2,63
	Maximum	26	36
	75. percentil	1	1
	Medián	0	1
	25. percentil	0	1
	Minimum	0	0
Pozitivní kontrola CT/negativní kontrola GC	N	198	209
	Průměr	7 007	6 593
	Směrodatná odchylka	776	709
	Maximum	8 884	10 383
	75. percentil	7 440	7 025
	Medián	7 066	6 661
	25. percentil	6 621	6 205
	Minimum	988	4 419

Studie preciznosti

Preciznost testu Aptima CT (tzn. reprodukovatelnost) byla hodnocena ve dvou externích klinických centrech a v Hologic. Preciznost testu Aptima CT byla hodnocena v rámci tří šarží souprav testu Aptima CT, tří klinických center, šesti operátorů a 108 cyklů testu Aptima CT. Dva operátoři v každém ze tří center zpracovali celkem šest cyklů testu Aptima CT s každou šarží soupravy testu, tedy celkem 36 cyklů na šarži soupravy testu. Každý cyklus obsahoval 12členný panel pro preciznost, který obsahoval 0 až 2 000 fg/test CT rRNA. Reprodukovatelnost byla stanovena s použitím přepravního média na výtěry označeného

rRNA. Reprodukovatelnost při testování výtěru a vzorků moči obsahujících cílový organismus nebyla stanovena. Tabulka 9 uvádí preciznost údajů RLU ve smyslu průměru, směrodatné odchylky, variačního koeficientu (VK) a procentuální shody s očekávanými výsledky pro výpočty variability mezi centry, mezi šaržemi, mezi operátory, mezi cykly a v rámci cyklu.

Tabulka 9: Údaje o preciznosti testu Aptima CT s použitím 12členného panelu pro preciznost, který obsahoval 0 až 2 000 fg/test CT rRNA.

Koncentrace	N	Průměr RLU (x1 000)	% shoda	V rámci cyklu		Mezi centry		Mezi šaržemi		Mezi operátory		Mezi cykly	
				SO (RLU x1 000)	VK (%)	SO (RLU x1 000)	VK (%)	SO (RLU x1 000)	VK (%)	SO (RLU x1 000)	VK (%)	SO (RLU x1 000)	VK (%)
Neg (0 fg/mL)	540	0,7	100	0,7	N/A	0,5	N/A	0,3	N/A	0,4	N/A	0	N/A
Níz. (12 fg/mL)	216	7 143,4	100	200,3	2,8	335,6	4,7	207,7	2,9	537,3	7,5	558,8	7,8
Stř. (250 fg/mL)	108	7 084,9	100	162,2	2,3	275,1	3,9	159,5	2,3	546,3	7,7	578,2	8,2
Stř. (2 500 fg/mL)	108	6 991,1	100	150,7	2,2	279,4	4,0	117,8	1,7	532,3	7,6	534,9	7,7
Vys. (5 000-5 135 fg/mL)	324	7 133,4	100	229,2	3,2	301,0	4,2	129,0	1,8	531,7	7,5	618,3	8,7

SO = směrodatná odchylka, % VK = % variační koeficient, % shoda = procentuální shoda.

Poznámka: Variabilita pro některé faktory může být numericky negativní, k čemuž může dojít, pokud je variabilita důsledkem těch faktorů velmi malá. Pokud k tomu dojde, variabilita podle směrodatné odchylky a % variačního koeficientu je nastavena na nulu (17). **N/A** = nevztahuje se na negativní analyty.

Preciznost testu Aptima CT v rámci laboratoře pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byla zjišťována pomocí označení zkumavek s roztokem PreservCyt v množství 20 CT IFU na zkumavku (0,1 IFU na reakci) a 100 CT IFU na zkumavku (0,5 IFU na reakci). Jako pozitivní a negativní kontroly byly testovány zkumavky obsahující 1 000 CT IFU na zkumavku (5 IFU na reakci) a zkumavky s neoznačeným roztokem PreservCyt. Mezi dva operátory bylo rozděleno deset zkumavek označených na každé úrovni IFU a deset zkumavek s neoznačeným roztokem. Operátoři promíchali zkumavky ve vortexové třepačce a pak přenesli 14 alikvotů (po 1,0 mL) do 14 zkumavek Aptima pro přenos vzorků, v souladu s příbalovou informací soupravy pro přenos vzorků Aptima. Operátorům nebyly známy titry vzorků. Každý Pap vzorek v přepravním médiu byl jednou testován testem Aptima CT. V období pěti dnů bylo zpracováno pět cyklů pro 140 výsledků na každé hladině IFU. Výsledky jsou sumarizovány v tabulce 10.

Tabulka 10: Údaje o preciznosti testu Aptima CT pro PreservCyt v rámci laboratoře s použitím 4členného panelu pro preciznost obsahujícího 0 až 1 000 IFU/20 mL CT buněk

Člen panelu	IFU/20 mL PreservCyt	IFU/rxn	N	Souhlasné	% shoda	Průměr RLU (x1 000)	U operátora		Mezi dny		Mezi operátory		Celkem	
							SO (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)
A	20	0,1	140	140	100	6 501,7	734,8	11,3	0	0,0	546,9	8,4	916	14,1
B	100	0,5	140	138*	98,6	6 337,7	1 054,7	16,6	0	0,0	947,2	14,9	1 417,6	22,4
C	1 000	5	140	140	100	6 521,9	909	13,9	247,1	3,8	393,9	6	1021	15,7
D	0	0	140	140	100	1,2	0,8	N/A	0	N/A	0,4	N/A	0,9	N/A

* nesouhlasný byl jeden negativní a jeden nejednoznačný výsledek

Poznámka: Variabilita pro některé faktory může být numericky negativní, k čemuž může dojít, pokud je variabilita důsledkem těch faktorů velmi malá. Pokud k tomu dojde, variabilita podle směrodatné odchylky a % variačního koeficientu je nastavena na nulu (17). **N/A** = nevztahuje se na negativní členy panelu. Operátor = cyklus. Vzorky s nesouhlasnými výsledky byly zahrnuty do analýzy variability signálu.

Analytická výkonnost DTS systémů

Viz *Analytická výkonnost systému Tigris DTS* následující po části *Shoda klinických vzorků systému Tigris DTS*, kde je uvedena analytická výkonnost specifická pro systém Tigris DTS.

Viz *Analytická výkonnost systému Panther*, kde je uvedena analytická výkonnost specifická pro systém Panther.

Analytická citlivost

Analytická citlivost *Chlamydia trachomatis* (detekční meze) byla stanovena přímým porovnáním ředění CT organismů v buněčné kultuře a v testu Aptima CT. Deklarovaná analytická citlivost testu je jedna jednotka tvořící inkluze (Inclusion-Forming Unit - IFU) v testu (7,25 IFU/výtěr, 5 IFU/mL moči, 9,75 IFU/mL tekutého Pap v roztoku PreservCyt) pro všech 15 sérovarů CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 a L3). Nicméně ředění menší než 1,0 IFU/test všech sérovarů mělo pozitivní výsledek.

Analytická specifická

Celkem bylo pomocí testu Aptima CT hodnoceno 154 kultivačních izolátů. Tyto izoláty zahrnovaly 86 organismů, které mohou být izolovány z urogenitálního traktu a 68 dalších organismů, které představují fylogenetický průřez organismů. Testované organismy zahrnovaly bakterie, plísňe, kvasinky, parazity a viry. Všechny organismy s výjimkou *C. psittaci*, *C. Pneumoniae*, *U. urealyticum* a virů byly testovány při $1,0 \times 10^6$ buněk/test v přepravním médiu na moč KOVA-Trol a 60 organismů bylo testováno v přepravním médiu na výtěry. Organismy *Chlamydia* a *Neisseria* byly testovány v roztoku PreservCyt. *C. psittaci* VR601 byly testovány při $8,0 \times 10^4$ buněk/test, a *C. psittaci* VR125 byly testovány při $1,0 \times 10^5$ buněk/test. *C. pneumoniae* byly testovány při 4×10^3 buněk/test, a *U. urealyticum* byly testovány při $6,7 \times 10^6$ buněk/test. Přítomnost virů byla testována následovně: (a) virus Herpes simplex I: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) virus Herpes simplex II: $6,0 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (c) lidský papilomavirus 16: $2,9 \times 10^6$ kopií DNA/test a (d) cytomegalovirus: $4,8 \times 10^5$ buněk/test. Seznam testovaných organismů je uveden v tabulce 11.

Tabulka 11: Analytická specifická

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

(n) = počet testovaných kmenů. U všech testovaných organismů byl výsledek testu Aptima CT negativní.

Interferující látky

Do výtěrů, tekutých vzorků Pap v roztoku PreservCyt a vzorků moči byly jednotlivě přidány následující interferující látky: 10 % krve, antikoncepční gel, spermicid, zvlhčovací krém, analgetikum na hemoroidy, kosmetický olej, pudr, protiplísňový krém, vaginální lubrikant, vaginální sprej a leukocyty (1×10^6 buněk/mL). Do vzorků moči byly jednotlivě přidány následující interferující látky: 30 % krev, analyty moči, protein, glukóza, ketony, bilirubin, nitrát, urobilinogen, pH 4 (kyselý), pH 9 (zásaditý), leukocyty (1×10^6 buněk/mL), buněčná drť, vitamíny, minerály, acetaminofen, aspirin a ibuprofen. Všechny byly testovány na potenciální interferenci s testem za nepřítomnosti a přítomnosti CT s odhadovaným ekvivalentem rRNA 1 buňky/test (5 fg/test). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA:RNA/buňka každého organismu. U žádné testované látky nebyla pozorována žádná interference. U testu Aptima CT nebyly pozorovány žádné inhibitory amplifikace.

Výtěžnost

Escherichia coli, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus* a *Staphylococcus epidermidis* (1×10^8 buněk/test) byly přidány do vzorků obsahujících ekvivalent rRNA přibližně 1 CT IFU (5 fg). Tyto přídatky neinterferovaly s amplifikací a detekcí CT rRNA pomocí testu Aptima CT.

Studie stability vzorků

A. Výtěry a vzorky moči

Údaje podporující doporučené přepravní a skladovací podmínky pro vzorky endocervikálních, uretrálních a vaginálních výtěrů byly generovány pomocí směsných negativních vzorků výtěrů. Směsné vzorky byly označeny CT při finální koncentraci 1 IFU na jednu reakci. Označené vzorky byly uchovány při teplotě $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzorky byly testovány ve dvojicích ve dnech 0, 20, 77 a 117. Všechny testovací podmínky byly pozitivní na CT vždy a za všech teplot.

Údaje podporující doporučené přepravní a skladovací podmínky pro vzorky moči byly vytvořeny pomocí negativních vzorků moči žen a mužů. Vzorky moči byly označeny CT při finální koncentraci 10 IFU na jednu reakci. Dvě sady označených vzorků moči byly uchovávány při teplotě $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hodin před přidáním do přepravního média na moč (UTM). Dvě sady vzorků UTM pak byly uchovány při teplotě $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a byly testovány ve trojicích ve dnech 0, 1, 5, 20 a 35. Všechny vzorky byly pozitivní na CT ve všech časových bodech. Dvě sady vzorků přepravního média na moč byly také testovány po 116 dnech skladování při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Všechny vzorky byly pozitivní na CT za obou typů podmínek uchovávání.

B. Tekutý Pap vzorek v roztoku PreservCyt

Údaje podporující doporučené přepravní a skladovací podmínky pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byly generovány pomocí negativních zpracovaných a nezpracovaných tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt. Pro nezpracované vzorky byly testovány čtyři skupiny vzorků roztoku PreservCyt po uchování ve zkumavce s roztokem PreservCyt. Každý typ směsných vzorků byl označen pomocí 1 až 10 IFU CT/test, uchováván při $2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, a poté testován v den 0 a ve dnech 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 a 36. Všechny označené vzorky byly pozitivní na CT, a to vždy a za všech teplot.

Pro zpracované vzorky byly testovány čtyři skupiny směsných vzorků v roztoku PreservCyt, aby byla zjištěna stabilita zpracovaných vzorků při teplotě $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Každá skupina negativních směsných vzorků byla označena 1 až 10 IFU CT/test a pak testována v den 0. Před zpracováním byly vzorky v roztoku PreservCyt uchovávány při $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu sedmi (7) dnů, pro simulování průběhu času od odběru vzorku, zpracování Pap a přepravy do mikrobiologické laboratoře. Po sedmi dnech při $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ byly 1 mL alikvoty z každé skupiny směsných vzorků přeneseny do zkumavek Aptima pro přenos vzorků a testovány v den 0, a poté uloženy při teplotě $2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Zpracované vzorky uchovávané při teplotě $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ byly pak testovány po dobu 17 dnů, a vzorky uchovávané při teplotě $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 36 dnů. Všechny označené vzorky byly pozitivní na CT, a to vždy a za všech teplot.

Údaje podporující podmínky delšího uchovávání byly generovány ze čtyř skupin směsných negativních vzorků zpracovaných v roztoku PreservCyt testovaných pod bodem mrazu. Každá skupina směsných vzorků byla označena 1 až 10 IFU CT/test a pak testována v den 0. Každá skupina byla nejdříve uložena při $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 14 dnů a pak uchovávána při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 106 dnů. Všechny označené vzorky byly pozitivní na CT, a to vždy a za všech teplot.

C. Další studie stability zmrazených vzorků (při teplotě -20 °C)

Údaje podporující doporučené podmínky uchovávání při teplotě -20 °C pro endocervikální výtěr, uretrální výtěr, vaginální výtěr, vzorek ženské moči, vzorek mužské moči a tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byly generovány pomocí 90 vzorků pro každý typ s negativním výsledkem, kde 30 vzorků bylo označeno CT při 1,0 IFU na reakci, 30 vzorků bylo označeno při 0,1 IFU na reakci a 30 vzorků nebylo označeno. Vzorky byly skladovány při -20 °C a byly testovány ve dnech 0, 200 a 400. Všechny označené vzorky splnily kritéria přijatelnosti s 95 % shodou s očekávanými výsledky.

Shoda klinických vzorků systému Tigris DTS

Shoda systému Tigris DTS

Shoda mezi výsledky testu Aptima CT generovanými na plně automatizovaném systému Tigris DTS a poloautomatizovaných systémech DTS byla hodnocena testováním endocervikálních výtěrů, mužských uretrálních výtěrů, mužských a ženských vzorků moči, vaginálních výtěrů a tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt. Každý klinický vzorek byl v Hologic testován individuálně pomocí testu Aptima CT na systémech Tigris DTS i DTS. Pořadí testů nebylo randomizováno. Vzorky s identifikovanými inkluzemi byly testovány na systému Tigris DTS a poté na systémech DTS.

Studie shody klinických vzorků – endocervikální výtěr, mužský uretrální výtěr, vzorky moči žen a mužů, vaginální výtěr a tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt

Pacientky a pacienti, kteří se dostavili ambulanci pro pohlavně přenosné choroby, ambulanci pro plánování rodičovství a gynekologicko-porodnickou ambulanci v osmi geograficky odlišných centrech s nízkou až vysokou prevalencí CT, poskytli endocervikální výtěry, mužské uretrální výtěry, vzorky moči mužů a žen, vaginální výtěry a tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt. Vzorky byly přepraveny přímo do Hologic pro testování, zatímco tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byly zpracovány ve 2 cytopatologických laboratořích předtím, než byly přepravovány. V Hologic byly endocervikální výtěry, mužské uretrální výtěry a vzorky moči žen a mužů nejprve podrobeny screeningu testem Aptima Combo 2 na systému Tigris DTS, a vaginální výtěry a tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byly podrobeny screeningu testem Aptima Combo 2 na systémech DTS. Vzorky s konečnými neplatnými nebo nejednoznačnými výsledky nebyly vybrány pro testování testem Aptima CT v rámci studie shody klinických vzorků.

Pro srovnávací testování testem Aptima CT v systému Tigris DTS a systémech DTS bylo vybráno 205 výtěrů žen (87 endocervikálních a 118 vaginálních), 120 mužských uretrálních výtěrů, 98 vzorků moči žen, 115 vzorků moči mužů a 116 tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt s pozitivními a negativními výsledky na CT v testu Aptima Combo 2. Vzorky s úvodním neplatným nebo nejednoznačným výsledkem byly testovány znovu na stejném systému, který původní výsledek podal. Jeden vzorek moči žen podal úvodní nejednoznačný výsledek na systémech DTS. Konečný výsledek při opakovaném testu byl platný. Jeden vzorek moči mužů podal úvodní neplatný výsledek na systému Tigris DTS. Konečný výsledek při opakovaném testu byl platný. Jeden vzorek moči žen podal úvodní nejednoznačný výsledek na systému Tigris DTS. Tento vzorek byl testován znovu, avšak doba jeho použitelnosti vypršela a konečný výsledek byl proto nejednoznačný.

Tabulka 12 uvádí pozitivní, negativní a celkovou shodu pro všechny spárované výsledky pro každý typ vzorku podle stavu příznaků. Kompozice vzorků byla relativně nevyvážená podle stavu příznaků, ale celková shoda u symptomatických jedinců byla 98,5 % (131/133) pro výtěry žen (endocervikální a vaginální dohromady), 100 % (60/60) pro mužské uretrální výtěry, 98,2 % (55/56) pro vzorky moči žen, 100 % (60/60) pro vzorky moči mužů a 100 % (81/81) pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt. U asymptomatických jedinců byla celková shoda 100 % pro 72 výtěrů žen, 60 mužských uretrálních výtěrů, 42 vzorků moči žen, 55 vzorků moči mužů a 35 tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt. Pro soubor symptomatických a asymptomatických jedinců dohromady byla celková shoda 99,0 % (203/205) pro výtěry žen (endocervikální a vaginální dohromady), 100 % (120/120) pro mužské uretrální výtěry, 99,0 % (97/98) pro vzorky moči žen, 100 % (115/115) pro vzorky moči mužů a 100 % (116/116) pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt. Vzhledem k relativně menšímu počtu vzorků od asymptomatických jedinců tyto závěry nemusí obecně

platit pro použití testu Aptima CT v systému Tigris DTS k testování vzorků od asymptomatických jedinců.

Viz tabulky 4 a 5a, které uvádí odhady citlivosti a specifity testu Aptima CT z testování na systémech DTS. Vzhledem ke zjištěným hodnotám shody se očekává, že citlivost i specifita testu Aptima CT s použitím systému Tigris DTS budou podobné.

Tabulka 12: Studie shody klinických vzorků: Pozitivní, negativní a celková shoda podle stavu příznaků

Příznak	Vzorek	Pohlaví	N	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris-	DTS- Tigris+	DTS- Tigris-	Pozitivní shoda v % (95 % CI)	Negativní shoda v % (95 % CI)	Celková shoda v % (95 % CI)
	Výtěr	Žena*	133	63	1	1	68	98,4 (91,6-100)	98,6 (92,2-100)	98,5 (94,7-99,8)
		Muž	60	42	0	0	18	100 (91,6-100)	100 (81,5-100)	100 (94,0-100)
Sympt.	Moč	Žena	56	33	0	1 ¹	22	100 (89,4-100)	95,7 (78,1-99,9)	98,2 (90,4-100)
		Muž	60	41	0	0	19	100 (91,4-100)	100 (82,4-100)	100 (94,0-100)
	PreservCyt	Žena	81	39	0	0	42	100 (91,0-100)	100 (91,6-100)	100 (95,5-100)
	Výtěr	Žena*	72	41	0	0	31	100 (91,4-100)	100 (88,8-100)	100 (95,0-100)
		Muž	60	23	0	0	37	100 (85,2-100)	100 (90,5-100)	100 (94,0-100)
Asympt.	Moč	Žena	42	23	0	0	19	100 (85,2-100)	100 (82,4-100)	100 (91,6-100)
		Muž	55	20	0	0	35	100 (83,2-100)	100 (90,0-100)	100 (93,5-100)
	PreservCyt	Žena	35	25	0	0	10	100 (86,3-100)	100 (69,2-100)	100 (90,0-100)
	Výtěr	Žena*	205	104	1	1	99	99,0 (94,8-100)	99,0 (94,6-100)	99,0 (96,5-99,9)
		Muž	120	65	0	0	55	100 (94,5-100)	100 (93,5-100)	100 (97,0-100)
Vše	Moč	Žena	98	56	0	1 ¹	41	100 (93,6-100)	97,6 (87,4-99,9)	99,0 (94,4-100)
		Muž	115	61	0	0	54	100 (94,1-100)	100 (93,4-100)	100 (96,8-100)
	PreservCyt	Žena	116	64	0	0	52	100 (94,4-100)	100 (93,2-100)	100 (96,9-100)

„+“ označuje pozitivní výsledek, „-“ označuje negativní výsledek, CI = interval spolehlivosti.

*Endocervikální a vaginální výtěry dohromady.

¹Vzorek podal konečný nejednoznačný výsledek v systému Tigris DTS.

Studie preciznosti

Účinek několika faktorů na variabilitu výkonnosti testu Aptima CT v systému Tigris DTS byl hodnocen pomocí 12členného panelu reprodukovatelnosti pro pohlavní choroby. Ve členech panelu byl obsah rRNA 0 až 5 000 fg CT rRNA/test. Panel zahrnoval členy s koncentrací CT na hranici deklarované analytické citlivosti 5 fg CT rRNA/test.

Panely byly testovány v jednom externím centru a v Hologic s použitím 2 šarží reagensů testu Aptima CT. V Hologic zpracoval každý ze dvou operátorů tři platné pracovní seznamy na jednu šarži reagensů na každém ze dvou přístrojů Tigris DTS. V externím centru zpracoval každý ze dvou operátorů tři platné pracovní seznamy na jednu šarži reagensů na jednom přístroji Tigris DTS. Jeden pracovní seznam se skládal z kontrol cyklu a šesti 12členných panelů.

Reprodukovatelnost byla stanovena výpočtem shody mezi konečnými výsledky testu a očekávaným výsledkem pro každého člena panelu. Reprodukovatelnost byla také hodnocena podle výpočtu směrodatné odchylky (SO) a variačního koeficientu (VK) signálu ve vztahu k centrům, operátorům, šaržím a pracovním seznamům. Variační koeficienty nebyly vypočteny pro CT-negativní členy panelu vzhledem k nízké hodnotě signálu, která by teoreticky mohla být nulová. Tabulka 13 uvádí výsledky reprodukovatelnosti. Všechny výsledky testu Aptima CT na systému Tigris DTS souhlasily s očekávanými výsledky. Hodnoty variačního koeficientu byly maximálně 3,4 %. Tyto údaje naznačují výtečnou reprodukovatelnost testu Aptima CT při použití na systému Tigris DTS.

Tabulka 13: Údaje o preciznosti systému Tigris DTS

Konc. (fg rRNA/ test)	N	Průměr (RLU x 1 000)	% shod	Mezi centry		Mezi operátory		Mezi šaržemi		Mezi pracovními seznamy		V rámci pracovního seznamu	
				SO ¹ (x1 000)	VK ¹ (%)	SO (x1 000)	VK (%)	SO ¹ (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)
0	863	2,9	100	1,4	N/A	0,3	N/A	0,0	N/A	0,2	N/A	2,2	N/A
5	432	7 041	100	32,0	0,5	217	3,1	63,7	0,9	174	2,5	206	2,9
50	433 ²	7 090	100	0,0	0,0	224	3,2	93,1	1,3	168	2,4	189	2,7
500	431 ³	7 130	100	0,0	0,0	240	3,4	96,9	1,4	164	2,3	217	3,0
5 000	432	7 152	100	0,0	0,0	208	2,9	85,7	1,2	179	2,5	211	3,0

Shod = shoda, Konc. = koncentrace, VK = variační koeficient, N/A = nevztahuje se na negativní vzorky, RLU = relativní jednotky světla, SO = směrodatná odchylka.

¹ Hodnoty směrodatné odchylky a variačního koeficientu jsou nastaveny na 0 resp. 0,0 % v souladu s modelem náhodných účinků, pokud je variabilita z tohoto zdroje záporné číslo (zdroj ve vztahu k náhodným chybám nebo variacím jiných zdrojů).

² Jeden pracovní seznam obsahoval 1 nadbytečný replikát člena panelu s 50 fg rRNA/test.

³ Na jednom pracovním seznamu chyběl 1 replikát člena panelu s 500 fg rRNA/test.

Analytická výkonnost systému Tigris DTS

Viz *Analytická výkonnost systému Panther*, kde je uvedena analytická výkonnost specifická pro systém Panther.

Studie ekvivalence analytické citlivosti

Panely citlivosti ve směsných endocervikálních a vaginálních vzorcích, směsných vzorcích moči a směsném tekutém Pap vzorku v roztoku PreservCyt byly připraveny s hodnotou CT rRNA ekvivalentu 1 IFU/test (7,25 IFU/výtěr, 5 IFU/mL moč) a 60 replikátů bylo testováno na systému Tigris DTS. Procento pozitivních (interval spolehlivosti 95 %) u endocervikálních výtěrů v systému Tigris DTS bylo 100 % (95,1 - 100), u vaginálních výtěrů 100 % (95,1 - 100), u vzorků moči 100 % (95,1 - 100), a u tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt bylo 100 % (95,1 - 100).

Studie klinického panelu označeného CT rRNA

Studie klinického panelu označeného CT rRNA hodnotila shodu mezi dvěma systémy (systém Tigris DTS a systémech DTS) pomocí šesti klinických panelů CT připravených Hologic a označených pomocí 0 až 5 000 fg rRNA/test CT. Klinické panely CT byly vytvořeny z vzorků endocervikálních a vaginálních výtěrů, uretrálních vzorků, vzorků moči mužů a žen, a tekutých vzorků Pap v roztoku PreservCyt, které měly negativní výsledky testu Aptima CT na systémech DTS při testování v Hologic. Negativní vzorky byly smíšeny dle typu vzorku, označeny nebo neoznačeny pomocí CT rRNA a alikvotně rozděleny jako replikáty každého člena panelu. Replikáty každého ze 6 členů panelu s odlišnými označenými hladinami rRNA byly zkombinovány, aby vznikl jeden klinický panel pro každý typ vzorku. Každý panel obsahoval celkem 132 replikátů.

Tabulka 14 uvádí procentuální shodu pro každou hladinu rRNA v panelech endocervikálních a vaginálních výtěrů, uretrálních výtěrů, moči mužů a žen, a v panelech tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt s očekávanými výsledky CT pro systém Tigris DTS a pro systémy DTS. Koncentrace byly v rozsahu od 1 logaritmu pod až po 3 logaritmy nad hodnotu 5 fg rRNA/test pro CT. V tabulce 14 je také uvedena celková procentuální shoda studie klinického panelu mezi systémy Tigris DTS a DTS.

Tabulka 14: Studie shody klinického panelu označeného CT rRNA

Vzorek	Člen panelu	Koncentrace (fg rRNA/test)	Replikáty	% shoda Tigris	% shoda DTS	Celková procentuální shoda mezi Tigris a DTS (95 % interval spolehlivosti)	
Endocervikální	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Velmi nízké	0,5	30	100	100		
	Nízký	5	30	100	100		
	Střední	50	30	100	100		
	Vysoký	5 000	30	100	100		
Výtěr	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Velmi nízké	0,5	30	100	100		
	Nízký	5	30	100	100		
	Střední	50	30	100	100		
	Vysoký	5 000	30	100	100		
Uretrální	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Velmi nízké	0,5	30	100	100		
	Nízký	5	30	100	100		
	Střední	50	30	100	100		
	Vysoký	5 000	30	100	100		
Moč	Cíl nepřítomen	0	12	91,7 (11/12)	100	99,2 (95,9-100)	
	Velmi nízké	0,5	30	100	100		
	Nízký	5	30	100	100		
	Střední	50	30	100	100		
	Vysoký	5 000	30	100	100		
	Žena	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	100 (97,2-100)
		Velmi nízké	0,5	30	100	100	
		Nízký	5	30	100	100	
		Střední	50	30	100	100	
		Vysoký	5 000	30	100	100	
Tekutý Pap v roztoku PreservCyt	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Velmi nízké	0,5	30	100	100		
	Nízký	5	30	100	100		
	Střední	50	30	100	100		
	Vysoký	5 000	30	100	100		

Studie ekvivalence analytické specifity

Pro test amplifikace nukleové kyseliny je analytická specifita s ohledem na jednotlivé organismy z větší části určována chemií testu (např. oligonukleotidovou sekvencí) a nikoliv platformou. Vzhledem k tomu, že reagentie pro test Aptima CT jsou identické pro systém Tigris DTS a systémy DTS, experimenty analytické specifity systému Tigris DTS byly navrženy s cílem zaměřit se na izoláty kultivace s největší náročností. Tyto organismy zahrnovaly ty, u nichž je známo, že zkříženě reagují v jiných amplifikačních testech. Dvacet čtyři (24) izolátů kultivace bylo vybráno z panelu organismů v tabulce 11, včetně 3 organismů, které jsou nejbližší příbuzné CT. Všechny testované organismy podávaly negativní výsledky v systému Tigris DTS.

Studie ekvivalence interferujících látek

Plná krev, látka, která se běžně nachází v urogenitálních vzorcích a o které je známo, že ovlivňuje některé amplifikační testy, byla použita k potvrzení, že systém Tigris DTS toleruje podobné hladiny potenciálně interferujících látek jako systémy DTS. Čerstvá krev byla přidána do skupin směsných klinických vzorků výtěru, vaginálního výtěru, moči a tekutého Pap vzorku v roztoku PreservCyt, které pak byly testovány ohledně potenciální interference s testem za nepřítomnosti nebo přítomnosti cílové CT s odhadovaným rRNA ekvivalentem 1 CT IFU/test (5 fg/test). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA:RNA/buňka každého organismu. Vzorky byly testovány na dvou systémech Tigris DTS. Všechny vzorky obsahující cílovou nukleovou kyselinu byly pozitivní při testování na hladině 10 % krve ve výtěrech, vaginálních výtěrech, tekutých Pap vzorcích v roztoku PreservCyt a 30 % krve ve vzorcích moči. Všechny vzorky, které neobsahovaly cíl, byly negativní na CT. Tyto výsledky naznačují, že na testovaných hladinách není pravděpodobné, aby plná krev ovlivnila výsledek CT v systému Tigris DTS.

Studie přenosu v systému Tigris DTS

Pro stanovení, že systém Tigris DTS snižuje riziko falešně pozitivních výsledků plynoucích z přenosu kontaminace, byla provedena studie užívající označené panely na třech systémech Tigris DTS. Studie použila 20 % vzorků s vysokým cílem obsahujících 1×10^6 fg CT rRNA/mL, které byly náhodně rozděleny mezi 80 % negativních vzorků obsahujících přepravní médium na výtěry. V průběhu studie bylo testováno 576 vzorků s vysokým cílem a 2 376 negativních vzorků na třech systémech Tigris DTS. Tabulka 15 uvádí, že celkový výskyt přenosu byl v průměru 0,21 % (5/2 364). Celkem 12 negativních vzorků bylo hlášeno jako neplatných a byly vyřazeny z výpočtu. Samostatná analýza byla provedena na podskupině studijní populace tvořené negativními vzorky, které okamžitě následovaly pozitivní vzorek s vysokým cílem. Výskyt přenosu pro tuto podskupinu populace byl v průměru 0,47 % (2/424). Pro falešně pozitivní v této podskupině byl přenos v rozsahu od 0 % do 1,43 % na třech systémech Tigris DTS. Tyto výsledky ukazují, že přenos kontaminace je u systému Tigris DTS omezený.

Tabulka 15: Shrnutí celkového přenosu v systému Tigris DTS

Přístroj	Počet platných negativních testů	Celkový počet falešně pozitivních výsledků CT	% falešně pozitivních výsledků CT	Intervaly spolehlivosti (95 % interval spolehlivosti)
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
Všechny přístroje	2 364	5	0,21	0,07 - 0,49

- Systému Tigris DTS 1 nepodal žádný falešně pozitivní výsledek CT ihned po pozitivním výsledku s vysokým cílem.
- Systému Tigris DTS 2 podal dva falešně pozitivní výsledky CT ihned po pozitivním výsledku s vysokým cílem.
- Systému Tigris DTS 3 nepodal žádný falešně pozitivní výsledek CT ihned po pozitivním výsledku s vysokým cílem.

Analytická výkonnost systému Panther

Studie shody označeného klinického panelu

Individuální negativní vzorky moči byly označeny sérovarem G CT pro vytvoření panelu 120 CT pozitivních. CT pozitivní členové panelu byli označeni organismy v míře 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL nebo 25 IFU/mL (0,5 fg/test, 5 fg/test nebo 50 fg/test). Kromě toho bylo odebráno 120 CT negativních vzorků moči. Pozitivní a negativní panely byly testovány na třech systémech Panther a třech systémech Tigris DTS. Pozitivní procentuální shoda mezi systémem Panther a systémem Tigris DTS byla 100 %, s nižším 95 % intervalem spolehlivosti 98,9 pro CT. Negativní procentuální shoda mezi systémem Panther a systémem Tigris DTS byla 100 %, s nižším 95 % intervalem spolehlivosti 98,9. Výsledky této studie jsou uvedeny v tabulce 16.

Tabulka 16: Studie shody označeného klinického panelu: Shoda s očekávanými výsledky CT

Člen panelu	Koncentrace		Replikáty	Tigris % shoda	Panther % shoda
	IFU/mL	fg/test			
Velmi nízké pozitivní	0,25	0,5	120	100	100
Nízké pozitivní	2,5	5	120	100	100
Střední pozitivní	25	50	120	100	100
Negativní	0	0	360	100	100

Celková procentuální shoda pozitivních mezi systémem Tigris DTS a systémem Panther (95 % interval spolehlivosti): 100 % (98,9–100).

Celková procentuální shoda negativních mezi systémem Tigris DTS a systémem Panther (95 % interval spolehlivosti): 100 % (98,9–100).

Studie analytické citlivosti

Analytická citlivost testu Aptima CT byla testována s použitím tří reprezentativních maticí vzorků. Jednalo se o vzorky moči zpracované s médiem pro přepravu moči (Urine Transport Medium - UTM), tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt naředěném médiem pro přepravu výtěrů (Swab Transport Medium - STM) a STM. Směsné vzorky těchto tří maticí byly označeny CT rRNA v následujících koncentracích: 0,5 fg/test, 5 fg/test a 50 fg/test (rRNA ekvivalenty 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL a 25 IFU/mL). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA:RNA/buňka každého organismu. Tyto panely byly testovány na třech systémech Panther s použitím dvou šarží reagensů v replikátech po 96. Byla vypočtena pozitivní shoda s očekávanými výsledky. Shoda s očekávanými výsledky byla 100 % (95 % interval spolehlivosti 96,2–100 %) pro všechny panely moči, 100 % (95 % interval spolehlivosti 96,1–100 %) pro všechny panely tekutých vzorků Pap v roztoku PreservCyt a 100 % (95 % interval spolehlivosti 96,0–100 %) pro všechny panely STM. Analytická citlivost testu je 2,5 IFU/mL.

Studie reprodukovatelnosti

Preciznost testu Aptima CT byla hodnocena na třech systémech Panther se dvěma šaržemi souprav testu Aptima CT v období 24 dnů. Byly vytvořeny panely obsahující STM označené CT rRNA v koncentracích uvedených v tabulce 17. Operátoři zpracovali dva cykly každý den, a každý člen panelu byl zpracován ve dvou replikátech na jeden cyklus. Byla vypočtena shoda s očekávanými výsledky a preciznost byla odhadnuta v souladu s NCCLS pokyny č. EP5-A2 (19). V každém panelu bylo obsaženo 93–96 replikátů. Tabulka 17 uvádí preciznost údajů RLU ve smyslu průměru, směrodatné odchylky, variačního koeficientu (VK) a procentuální shody s očekávanými výsledky a výpočty variability mezi přístroji, mezi šaržemi, mezi cykly a v rámci cyklu.

Tabulka 17: Preciznost systému Panther pro test Aptima CT

Matrice	CT (IFU/ mL)	N*	Průměrná RLU (x1 000)	% shoda	Mezi přístroji		Mezi šaržemi		Mezi cykly		V rámci cyklu		Celkem	
					Směro- datná od- chylka (x1 000)	VK (%)	Směro- datná od- chylka (x1 000)	VK (%)	Směro- datná od- chylka (x1 000)	VK (%)	Směro- datná od- chylka (x1 000)	VK (%)	Směro- datná od- chylka (x1 000)	VK (%)
STM	0	96	2	100	0,38	21,3	0,64	35,8	0	0	1,86	104,6	2	112,3
	0,25	93	7 390	100	221,74	3	264,35	3,6	0	0	180,07	2,4	389,2	5,3
	2,5	96	7 478	100	224,45	3	249,88	3,3	53,1	0,7	164,57	2,2	377,8	5,1
	25	96	7 482	100	222,23	3	233,36	3,1	46,47	0,6	180,29	2,4	372,2	5
Moč	0	95	2	100	0,23	12,7	0,38	20,7	0,52	28,5	1,3	71	1,5	81,9
	0,25	96	6 978	100	276,94	4	330,57	4,7	66,36	1	264,73	3,8	510,4	7,3
	2,5	95	7 291	100	121,2	1,7	154,63	2,1	73,51	1	148,13	2	256,8	3,5
	25	95	7 349	100	121,57	1,7	181,34	2,5	66,87	0,9	162,45	2,2	280,2	3,8
PreservCyt	0	96	7	97,9	3,36	46,1	0,29	4	0	0	20,52	281,4	20,8	285,3
	0,25	96	6 996	100	225,16	3,2	209,86	3	0	0	164,87	2,4	349,2	5
	2,5	95	7 079	100	246,89	3,5	172,55	2,4	0	0	151,67	2,1	337,2	4,8
	25	96	7 050	100	262,52	3,7	167,79	2,4	0	0	192,5	2,7	366,2	5,2

Poznámka: Variabilita pro některé faktory může být numericky negativní, k čemuž může dojít, pokud je variabilita důsledkem těch faktorů velmi malá. Dojde-li k tomu, SO = 0 a VK = 0 %.

* V každém panelu bylo obsaženo celkem 96 replikátů. Ve vybraných cyklech nebyly neplatné replikáty testovány znovu.

Analytická specifická

Analytická specifická nebyla na přístroji Panther testována. Viz část *Analytická výkonnost systému Tigris DTS*, která uvádí údaje *Studie ekvivalence analytické specifické*.

Studie ekvivalence interferujících látek

Krev, která se běžně nachází v urogenitálních vzorcích, může ovlivňovat některé amplifikační testy. Plná krev byla používána pro stanovení stupně interference krve na systému Panther s ohledem na tuto potenciální interferující složku. Čerstvá krev byla přidána do skupin směsí klinických vzorků vaginálního výtěru, zpracovaných tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt a vzorků moči a poté provedeny testy ohledně potenciální interference za přítomnosti nebo nepřítomnosti CT cíle. Odhadovaný rRNA ekvivalent 1 CT IFU/test (5 fg/test) byl použit jako cílová koncentrace, protože představuje analytickou citlivost testu. Vzorky byly testovány na systému Panther. Všechny vzorky obsahující cílovou nukleovou kyselinu byly pozitivní při testování na hladině 10 % (obj./obj.) krve ve výtěrech nebo tekutých Pap vzorcích v roztoku PreservCyt a 30 % (obj./obj.) krve ve vzorcích moči. Všechny vzorky, které neobsahovaly cíl, byly správně identifikovány jako negativní. Tyto výsledky jsou identické s výsledky, které byly získány pro systém Tigris DTS po nastříknutí stejným množstvím krve. Krev přidaná k výtěru, tekutým Pap vzorkům v roztoku PreservCyt a vzorkům moči v množství větším, než by mohlo být očekáváno u normálního odběru vzorku, neinterferovala s výsledky systému Panther.

Studie přenosu v systému Panther

Pro stanovení, že systém Panther omezuje riziko falešně pozitivních výsledků plynoucích z přenosu kontaminace, byla provedena vícecyklová analytická studie užívající označené panely na třech systémech Panther. Přenos byl hodnocen s použitím přibližně 20 % CT vzorků o vysokém titru, které byly rozmístěny mezi negativní vzorky. Cykly zahrnovaly skupiny vysoce pozitivních vzorků se skupinami negativních vzorků a také jednotlivé vysoce pozitivní vzorky rozmístěné ve specifickém vzorci v rámci cyklu. Byly připraveny vzorky

o vysokém titru přidáním CT rRNA do STM tak, aby vznikla konečná koncentrace 5×10^5 fg rRNA/reakci (rRNA ekvivalent $2,5 \times 10^5$ CFU/mL). Testování se provádělo v 5 cyklech na třech systémech Panther s celkovým počtem 2 933 negativních vzorků. Celkový výskyt přenosu byl 0 % s 95 % intervalem spolehlivosti 0–0,1 %. Celkem 7 negativních vzorků z cyklů s vysokým titrem hodnotících přenos bylo hlášeno jako neplatných a byly vyřazeny z výpočtu.

Literatura

1. **Beem, M. O., and E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. *NEJM* **296**:306-310.
2. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, and H. H. Lee.** 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. *J. Clin. Microbiol.* **34**:2395-2400.
3. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **164**:1771-1781.
4. **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.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
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. **McCurdy, Brenda W.** 1997. Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory. February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
17. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
18. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
19. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).
20. **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.
21. **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.
22. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
23. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
24. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **123**:753-757.
25. **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.
26. **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.

27. **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.
28. **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.
29. **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



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Podpora zákazníků: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com
Technická podpora: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Další kontaktní informace naleznete na www.hologic.com

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep, Tigris, a TMA jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc. nebo jejich dceřiných společností ve Spojených státech amerických nebo v jiných zemích.

eppendorf (stylizovaná forma) a REPEATER jsou ochranné známky společnosti Eppendorf AG.
KOVA-TROL je ochranná známka společnosti Hycor Biomedical, Inc.
RAININ je ochranná známka společnosti Rainin Instrument, LLC.
eppendorf (stylizovaná forma) je ochranná známka společnosti Eppendorf AG.
TECAN a FREEDOM EVO jsou ochranné známky společnosti Tecan Group AG.

Všechny ostatní ochranné známky, které se mohou objevit v tomto příbalovém letáku, jsou majetkem jejich příslušných vlastníků.

Na tento výrobek se může vztahovat jeden nebo více patentů Spojených Států, které jsou uvedeny na webové stránce www.hologic.com/patents.

© 2000-2019 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

502184CS Rev. 007
2019-05