

## Dosaggio Aptima™ per *Neisseria gonorrhoeae*

Per l'uso diagnostico *in vitro*.

Solo per esportazione dagli USA.

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Informazioni generali</b> . . . . .  | <b>2</b>  |
| Finalità d'uso . . . . .  | 2         |
| Sommaro e spiegazione della prova . . . . .                                       | 2         |
| Principi della procedura . . . . .  | 3         |
| Avvertenze e precauzioni. . . . .   | 4         |
| Requisiti di manipolazione e conservazione dei reagenti . . . . .                 | 7         |
| Raccolta e conservazione dei campioni. . . . .                                    | 8         |
| <b>Interpretazione dell'analisi – QC/Risultati relativi ai pazienti</b> . . . . . | <b>39</b> |
| <b>Limitazioni</b> . . . . .  | <b>42</b> |
| <b>Risultati degli studi clinici</b> . . . . .                                    | <b>44</b> |
| Valori attesi sui sistemi DTS . . . . .   | 45        |
| Prestazioni cliniche dei Sistemi DTS . . . . .                                    | 48        |
| Concordanza dei campioni clinici sul Sistema Tigris DTS. . . . .                  | 65        |
| Prestazioni analitiche del Sistema Tigris DTS . . . . .                           | 69        |
| Prestazioni analitiche del Sistema Panther . . . . .                              | 73        |
| <b>Bibliografia.</b> . . . . .  | <b>75</b> |

### DTS™ Systems

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Sistemi DTS</b> . . . . .                               | <b>10</b> |
| Reagenti e materiali in dotazione . . . . .                | 10        |
| Materiali richiesti ma disponibili separatamente . . . . . | 11        |
| Materiali opzionali . . . . .                              | 12        |
| <b>Procedura di analisi con i sistemi DTS</b> . . . . .    | <b>13</b> |
| Note procedurali . . . . .                                 | 19        |

### Tigris™ DTS™

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Sistema Tigris DTS</b> . . . . .                             | <b>24</b> |
| Reagenti e materiali in dotazione . . . . .                     | 24        |
| Materiali richiesti ma disponibili separatamente . . . . .      | 26        |
| Materiali opzionali . . . . .                                   | 27        |
| <b>Procedura di analisi con il Sistema Tigris DTS</b> . . . . . | <b>27</b> |
| Note procedurali . . . . .                                      | 30        |

### Panther™

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Sistema Panther</b> . . . . .                             | <b>32</b> |
| Reagenti e materiali in dotazione . . . . .                  | 32        |
| Materiali richiesti ma disponibili separatamente . . . . .   | 33        |
| Materiali opzionali . . . . .                                | 34        |
| <b>Procedura di analisi con il Sistema Panther</b> . . . . . | <b>34</b> |
| Note procedurali . . . . .                                   | 37        |

## Informazioni generali

### Finalità d'uso

Il Dosaggio Aptima™ per *Neisseria gonorrhoeae* è un test con sonda di acido nucleico per l'amplificazione del target che utilizza la cattura del target (target capture) per il rilevamento qualitativo *in vitro* dell'RNA ribosomico (rRNA) derivante da *Neisseria gonorrhoeae* (GC) per essere di ausilio nella diagnosi di malattie gonococciche dell'apparato urogenitale mediante l'uso del Sistema Tigris DTS, del Sistema Panther o di strumenti DTS semi-automatizzati secondo quanto specificato. Il dosaggio può essere usato per testare i seguenti campioni derivanti da individui sintomatici: campioni di tamponi endocervicali, vaginali e dell'uretra maschile raccolti da medici, e campioni di urina femminile e maschile. Il dosaggio può essere usato per testare i seguenti campioni derivanti da individui asintomatici: campioni di tamponi endocervicali e vaginali raccolti da medici, campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente<sup>1</sup> e campioni di urina femminile e maschile. Questo test è indicato anche per analizzare campioni ginecologici, sia da pazienti sintomatici che da pazienti asintomatici. Questi campioni cervicali raccolti in fiale contenenti la soluzione PreservCyt™ possono essere analizzati prima o dopo il Pap test. L'analisi dopo il Pap test può essere eseguita solo sui campioni trattati con il ThinPrep™ 2000 System.

<sup>1</sup> I campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente rappresentano un'opzione di screening per le pazienti quando non è altrimenti indicato un esame pelvico. Il kit di raccolta dei campioni di tampone Aptima Multitest non è concepito per l'uso domestico.

### Sommario e spiegazione della prova

Le infezioni da *Neisseria gonorrhoeae* sono una delle infezioni a trasmissione sessuale più diffuse al mondo. Si stima che, nel 2010, solo negli Stati Uniti, siano stati segnalati, presso i Center for Disease Control, 309.341 nuovi casi di infezione da GC (100,8 per una popolazione di 100.000 individui) (2).

La *N. gonorrhoeae* è l'agente che causa la malattia gonococcica. Quelli della *Neisseria* sono diplococchi Gram-negativi non mobili. La maggior parte delle infezioni gonococciche sono infezioni senza complicazioni del tratto genitale inferiore e possono essere asintomatiche. Tuttavia, se non trattate nelle donne, le infezioni possono aggravarsi e causare il processo flogistico pelvico (PID). Il PID può manifestarsi come endometrite, salpingite, peritonite pelvica e ascessi salpingo-ovarici. Una più piccola percentuale di persone colpite da infezioni gonococciche può sviluppare l'infezione gonococcica disseminata (DGI) (8, 11).

La diagnosi convenzionale delle infezioni GC richiede l'isolamento dell'organismo su mezzi selettivi o l'osservazione dei diplococchi in strisci a colorazione di Gram (9). I metodi di coltura possono avere una buona sensibilità clinica, ma sono molto dipendenti dall'adeguata manipolazione dei campioni. Una conservazione e un trasporto inadeguati del campione possono determinare la perdita della vitalità dell'organismo e dare risultati falsi negativi. Inoltre, una cattiva tecnica di campionamento, materiali di campionamento tossici e l'inibizione della crescita da parte di componenti delle secrezioni corporee possono anch'essi determinare risultati falsi negativi (3, 10). Metodi comunemente usati non basati su coltura per il rilevamento di GC includono le prove dirette del DNA con sonda e le analisi di amplificazione dell'acido nucleico (NAAT).

Le NAAT di prima generazione per GC presentano problemi tecnologici che hanno limitato le loro prestazioni. Questi problemi includono il trattamento complicato dei campioni e l'inibizione dei campioni che possono dare risultati falsi negativi (6). Il Dosaggio Aptima per *Neisseria gonorrhoeae* (Dosaggio Aptima GC) è una NAAT di seconda generazione che utilizza le tecnologie di cattura del target (target capture), amplificazione mediata dalla trascrizione

(TMA™) e dosaggio con protezione dell'ibridizzazione (HPA) per semplificare il trattamento dei campioni, amplificare l'rRNA target e rilevare l'amplicon, rispettivamente. Recenti studi che confrontano le prestazioni e l'inibizione dei campioni di vari sistemi di amplificazione hanno dimostrato i vantaggi delle tecnologie di cattura del target (target capture), TMA e HPA (4, 7).

Secondo le Linee guida del 2002 per lo screening di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*, i CDC raccomandano una serie di opzioni per il follow-up delle analisi di screening positive "nel caso in cui ci si possano aspettare valori predittivi positivi bassi o laddove risultati falsi positivi potrebbero avere serie conseguenze psicosociali o legali" (1). Una di queste opzioni per l'approfondimento delle analisi potrebbe essere un diverso test di amplificazione con acido nucleico approvato dal FDA (Food and Drug Administration), che utilizza un target diverso rispetto all'analisi iniziale. Sia il Dosaggio Aptima GC che il Dosaggio Aptima Combo 2™ prendono di mira entrambi la subunità dell'rRNA 16S per la cattura e il rilevamento. La sonda di cattura è la stessa per entrambi i dosaggi, ma il Dosaggio Aptima GC riconosce per il rilevamento una regione diversa della subunità dell'rRNA 16S rispetto al Dosaggio Aptima Combo 2.

## Principi della procedura

Il Dosaggio Aptima GC unisce le tecnologie di cattura del target (target capture), TMA e HPA.

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

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

## Avvertenze e precauzioni

- A. Per l'uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per uso professionale.
- C. Per ulteriori specifiche avvertenze, precauzioni e procedure per controllare la contaminazione relativa al Sistema Tigris DTS, consultare il *Manuale d'uso del Sistema Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)*.
- D. Per ulteriori specifiche avvertenze, precauzioni e procedure per controllare la contaminazione relativa al Sistema Panther, consultare il *Manuale d'uso del Sistema Panther (Panther System Operator's Manual)*.

## Pertinenti al laboratorio

- E. Usare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- F. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non mangiare, bere né fumare nelle aree di lavoro. Indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio quando si maneggiano campioni e reagenti del kit. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti del kit.
- G. **Avvertenza: irritanti e corrosivi.** Evitare di fare entrare in contatto l'Auto Detect 1 e l'Auto Detect 2 con la pelle, gli occhi e le mucose. Se questi liquidi vengono a contatto con pelle od occhi, risciacquare con acqua. Se questi liquidi si rovesciano, diluire il liquido rovesciato con acqua prima di asciugarlo con un panno.
- H. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M).

### *Specifiche per i sistemi DTS*

- I. Per ridurre al minimo la contaminazione da amplicon nel dosaggio, si raccomanda caldamente di disporre di un'area separata per l'HPA (dosaggio con protezione dell'ibridizzazione). Quest'area dedicata deve essere lontana dall'area di preparazione del reagente, cattura del target (target capture) e amplificazione.
- J. Per contribuire ad evitare la contaminazione da amplicon del laboratorio, disporre le aree secondo un flusso di lavoro unidirezionale: dalla preparazione del reagente fino all'HPA. Campioni, apparecchiature e reagenti non vanno riportati nell'area nel quale è stato eseguito un procedimento precedente. Inoltre, il personale non dovrebbe ritornare nelle aree di lavoro precedenti senza le adeguate salvaguardie contro la contaminazione.

## Pertinenti ai campioni

- K. Questo metodo è stato provato usando soltanto campioni di tampone endocervicale e dell'uretra maschile, campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt, campioni di tampone vaginale e campioni di urina femminile e maschile. Le prestazioni con campioni diversi da quelli specificati nella sezione Raccolta e conservazione dei campioni non sono state valutate.  
I singoli laboratori possono convalidare altri dispositivi di raccolta (12, 14).

- L. Le date di scadenza indicate nei kit per la raccolta si riferiscono al centro di raccolta e non alla struttura di analisi. I campioni raccolti in qualsiasi momento prima della data di scadenza indicata nel kit di raccolta, e che siano trasportati e conservati seguendo le istruzioni dell'inserito informativo della confezione, sono validi per l'analisi anche se la data di scadenza sulla provetta di raccolta è passata.
- M. La soluzione PreservCyt è stata convalidata come mezzo alternativo per l'analisi con il Dosaggio Aptima GC. I campioni liquidi Pap (liquid Pap) in soluzione PreservCyt trattati con il processore ThinPrep 3000 o con altri strumenti non sono stati valutati in merito all'analisi per il rilevamento di *Neisseria gonorrhoeae* con il Dosaggio Aptima GC.
- N. Dopo l'aggiunta dell'urina nell'apposita provetta di trasporto, il livello del liquido deve rientrare fra le due righe nere indicatrici marcate sull'etichetta della provetta. In caso contrario, il campione va rifiutato.
- O. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione, per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- P. I campioni potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo dosaggio, adottare le precauzioni universali. Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio. L'esecuzione di questa procedura diagnostica va permessa solo a personale adeguatamente addestrato nella manipolazione di materiali infettivi.
- Q. Durante i procedimenti di manipolazione dei campioni, evitare la contaminazione incrociata. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni non vengano in contatto reciproco ed eliminare i materiali usati senza passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono in contatto con i campioni.
- R. Se il laboratorio riceve una provetta di trasporto del campione di tampone (swab specimen transport) che non contiene alcun tampone o contiene due tamponi, un tampone di pulizia o un tampone non fornito da Hologic, il campione va rifiutato. Prima di rifiutare una provetta di trasporto del tampone che non contiene tampone, verificare che non si tratti di una provetta di trasferimento del campione Aptima, in quanto questa provetta di trasporto del campione non contiene un tampone.
- S. Per i campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt, raccogliere il campione seguendo le istruzioni del fabbricante. Aliquote rimosse successivamente dal flacone PreservCyt per l'analisi mediante il Dosaggio Aptima GC vanno trattate usando solo il Kit di trasferimento dei campioni Aptima (Aptima Specimen Transfer Kit).
- T. In certe condizioni, i cappucci delle Provette di trasporto Aptima possono liberare liquido quando vengono forati. Per prevenire tale occorrenza, seguire le istruzioni della *Procedura di analisi* pertinente.

### **Pertinenti al dosaggio**

- U. Le prestazioni dei campioni di tampone vaginale non sono state valutate in donne incinte.
- V. Le prestazioni dei campioni endocervicali e vaginali, dei tamponi uretrali maschili, dei campioni di urina maschile e femminile e dei campioni liquidi Pap (liquid Pap) in soluzione PreservCyt non sono stati valutati negli adolescenti di età inferiore a 16 anni.
- W. Non usare questo kit dopo la data di scadenza.

- X. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti per dosaggio provenienti da kit con numeri di lotto diversi. I controlli e i fluidi per dosaggio Aptima possono avere numeri di lotto diversi.

*Specifiche per i sistemi DTS*

- Y. Vanno usati puntali con tappi idrofobi. A questo dosaggio devono essere dedicati come minimo due pipettatori a ripetizione: uno per l'uso nei procedimenti di cattura del target (target capture) e di amplificazione, e uno per l'uso nei procedimenti di HPA. All'uso con questo dosaggio devono essere dedicati due micropipettatori: uno per l'uso nel trasferimento del campione e uno per l'uso nella preparazione del reagente. Tutti i pipettatori vanno puliti regolarmente come descritto in *Procedura di analisi con i sistemi DTS, Note procedurali*.
- Z. Quando si usano pipettatori a ripetizione per l'aggiunta dei reagenti, non toccare la provetta con il puntale della pipetta, onde evitare il carryover da una provetta all'altra.
- AA. Per ottenere risultati accurati del dosaggio occorre una miscelazione adeguata. Per dettagli completi, vedere *Procedura di analisi con i sistemi DTS, Note procedurali*.
- AB. Ai procedimenti di cattura del target (target capture), amplificazione e HPA vanno dedicati bagni di acqua separati.
- AC. La riproducibilità del dosaggio è stata stabilita usando un mezzo di trasporto del tampone addizionato di rRNA. Non è stata determinata la riproducibilità nell'analisi di campioni di tampone e di urina contenenti organismo target.
- AD. Le carte adesive protettive vanno smaltite nel contenitore degli scarti non appena vengono rimosse dai tubi di reazione. Devono essere sempre usate carte adesive protettive nuove: non riutilizzare mai carte protettive da un procedimento precedente. Le carte adesive protettive vanno fissate saldamente in cima a tutti i tubi di reazione.

**Requisiti di manipolazione e conservazione dei reagenti**

- A. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperature comprese fra 2 °C e 8 °C (refrigerati):
- Reagente di amplificazione Aptima GC
  - Reagente enzimatico Aptima
  - Reagente sonda Aptima GC
  - Reagente B Target Capture Aptima
  - Controllo positivo, GC / Controllo negativo, CT Aptima
  - Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC Aptima
- B. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperature comprese fra 2 °C e 30 °C:
- Soluzione di ricostituzione di amplificazione Aptima GC
  - Soluzione di ricostituzione enzimatica Aptima
  - Soluzione di ricostituzione della sonda Aptima GC
  - Reagente di selezione (Selection) Aptima
- C. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperature comprese fra 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):
- Reagente Target Capture Aptima GC
  - Soluzione di lavaggio Aptima
  - Tampone per fluido di disattivazione Aptima
  - Reagente oleoso Aptima
- D. Il reagente Target Capture di lavoro GC (wTCR GC) è stabile per 60 giorni quando viene conservato a temperature comprese fra 15 °C e 30 °C. Non refrigerare.
- E. Dopo la ricostituzione, il reagente enzimatico, il reagente di amplificazione GC e il reagente sonda GC sono stabili per 60 giorni quando vengono conservati a temperature comprese fra 2 °C e 8 °C.
- F. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e il reagente Target Capture di lavoro (wTCR) dopo 60 giorni o dopo la data di scadenza del Lotto di riferimento, a seconda di quale data cada per prima.
- G. I controlli sono stabili fino alla data indicata sui flaconi.
- H. Il reagenti provenienti dai flaconi da 100 test conservati nel Sistema Tigris DTS hanno una stabilità a bordo di 96 ore.
- I. I reagenti conservati nel Sistema Panther hanno una stabilità a bordo di 72 ore.
- J. Il reagente sonda GC e il reagente sonda ricostituito GC sono fotosensibili. Conservare i reagenti al riparo dalla luce.
- K. Dopo che sono state riscaldate fino alla temperatura ambiente, alcune provette di controlli potrebbero apparire torbide o contenere precipitati. Torbidità o precipitazione associate ai controlli non hanno impatto sulle prestazioni dei controlli stessi. I controlli possono essere usati sia quando sono trasparenti che quando sono torbidi o contengono precipitato.

Se si desiderano controlli trasparenti, la solubilizzazione può essere sveltita incubandoli alla fascia superiore dell'intervallo di temperature ambiente (da 15 °C a 30 °C).

**L. Non congelare i reagenti.**

**Raccolta e conservazione dei campioni**

Il Dosaggio Aptima GC è concepito per rilevare la presenza di GC nei campioni endocervicali raccolti dal medico, nei campioni di tampone vaginale e dell'uretra maschile, nei campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente, nei campioni di urina maschile e femminile, e nei campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt. Le prestazioni con campioni diversi da quelli raccolti con i seguenti kit di raccolta dei campioni non sono state valutate:

- Kit unisex di raccolta campioni di tampone Aptima per campioni di tampone endocervicale e dell'uretra maschile
- Kit di raccolta di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili
- Kit di raccolta campioni di tampone multitest Aptima
- Aptima Specimen Transfer Kit (kit di trasferimento dei campioni, per l'uso con campioni ginecologici raccolti in soluzione PreservCyt)

**A. Istruzioni per la raccolta**

Per le istruzioni per la raccolta, consultare l'insero informativo dell'appropriato kit di raccolta campioni.

**B. Trasporto e conservazione dei campioni prima dell'analisi**

**1. Campioni di tampone**

- a. Dopo la raccolta, trasportare e conservare fino al momento dell'analisi il tampone nella provetta di trasporto del campione di tampone (swab specimen transport) a temperature comprese fra 2 °C e 30 °C. I campioni vanno analizzati con il Dosaggio Aptima GC entro 60 giorni dalla raccolta. Se occorre conservare più a lungo, congelare a temperature comprese fra -20 °C e -70 °C per un massimo di 12 mesi dopo la raccolta (vedere *Studi sulla stabilità dei campioni*).

**2. Campioni di urina**

- a. I campioni di urina che si trovano ancora nel contenitore di raccolta principale devono essere trasportati al laboratorio a temperature comprese fra 2 °C e 30 °C. Trasferire il campione di urina nella Provetta di trasporto del campione di urina Aptima entro 24 ore dalla raccolta. Conservare a temperature comprese fra 2 °C e 30 °C e analizzare entro 30 giorni dalla raccolta.
- b. Dopo la raccolta, trasportare i campioni di urina trattati nella provetta di trasporto del campione di urina Aptima a temperature comprese fra 2 °C e 30 °C e conservarli a temperature comprese fra 2 °C e 30 °C fino al momento dell'analisi. I campioni di urina trattati vanno dosati con il Dosaggio Aptima GC entro 30 giorni dalla raccolta. Se occorre conservare più a lungo, congelare a temperature comprese fra -20 °C e -70 °C per un massimo di 12 mesi dopo la raccolta (vedere *Studi sulla stabilità dei campioni*).



3. Campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt
  - a. I campioni liquidi Pap (liquid Pap) in soluzione PreservCyt e destinati all'analisi per il rilevamento di GC devono essere trattati per la citologia e/o trasferiti in una provetta di trasferimento del campione Aptima entro 30 giorni dalla raccolta, se conservati a temperature comprese fra 2 °C e 30 °C (vedere *Studi sulla stabilità dei campioni*).
  - b. Se verrà impiegata la procedura di rimozione delle aliquote ThinPrep, consultare l'*Appendice del Manuale d'uso del processore ThinPrep 2000 o ThinPrep 3000 (ThinPrep 2000 o ThinPrep 3000 Processor Operator's Manual - Addendum)* per istruzioni in merito. Trasferire 1 mL di aliquota rimossa in una provetta di trasferimento del campione Aptima attenendosi alle istruzioni riportate nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima.
  - c. Se il campione liquido Pap (liquid Pap) in soluzione PreservCyt verrà analizzato dopo il trattamento con il processore ThinPrep 2000, trattarlo in base alle istruzioni riportate nel *Manuale d'uso del processore ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* e nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima. Trasferire 1 mL di liquido restante nella fiala della soluzione PreservCyt in una provetta di trasferimento del campione Aptima attenendosi alle istruzioni riportate nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima.
  - d. Una volta che il campione Pap liquido (liquid Pap) in soluzione PreservCyt sia stato trasferito alla provetta di trasferimento del campione Aptima, il campione deve essere analizzato nel Dosaggio Aptima GC entro 30 giorni, se conservato a temperature comprese fra 2 °C e 8 °C, oppure entro 14 giorni se conservato a temperature comprese fra 15 °C e 30 °C. Se occorre conservarlo più a lungo, congelarlo a temperature comprese fra -20 °C e -70 °C per un massimo di 12 mesi dopo il trasferimento (vedere *Studi sulla stabilità dei campioni*).

#### C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi

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

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

## Sistemi DTS

Di seguito sono elencati i reagenti del Dosaggio Aptima GC per i sistemi DTS. Sono indicati anche i simboli di identificazione dei reagenti, accanto al rispettivo nome del reagente.

### Reagenti e materiali in dotazione

**Nota:** per informazioni sulle indicazioni di pericolo e i consigli di prudenza che possono essere associati ai reagenti, consultare la libreria delle schede di sicurezza (Safety Data Sheet Library) all'indirizzo [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Kit per Dosaggio Aptima Neisseria gonorrhoeae (Aptima Neisseria gonorrhoeae Assay Kit)**, 100 test (2 scatole) (N. cat. 301091)

**Scatola refrigerata Dosaggio Aptima Neisseria gonorrhoeae (scatola 1)**  
(alla ricezione, conservare a temperature da 2 °C a 8 °C)

| Simbolo             | Componente  | Quantità    |
|---------------------|---|-------------|
| <b>A</b>            | <b>Reagente di amplificazione Aptima GC</b><br><i>Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di agente strutturante.</i>   | 1 flacone   |
| <b>E</b>            | <b>Reagente enzimatico Aptima</b><br><i>Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente &lt; 10% di reagente strutturante.</i>  | 1 flacone   |
| <b>P</b>            | <b>Reagente sonda Aptima GC</b><br><i>Sonde di DNA non infettive chemiluminescenti liofilizzate in soluzione tamponata con succinato contenente &lt; 5% di detergente.</i>  | 1 flacone   |
| <b>TCR-B</b>        | <b>Reagente B Target Capture Aptima</b><br><i>Acido nucleico non infettivo in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di detergente.</i>   | 1 x 0,35 mL |
| <b>PGC/<br/>NCT</b> | <b>Controllo positivo, GC / Controllo negativo, CT Aptima</b><br><i>Acido nucleico di GC non infettivo in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di detergente. Ciascun campione di 400 µL contiene l'equivalente stimato di rRNA di 50 cellule di GC (250 fg/dosaggio*).</i> | 3 x 1,7 mL  |
| <b>PCT/<br/>NGC</b> | <b>Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC Aptima</b><br><i>Acido nucleico di CT non infettivo in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di detergente. Ogni campione di 400 µL contiene l'equivalente stimato di rRNA di 1 IFU di CT (5 fg/dosaggio*).</i>           | 3 x 1,7 mL  |

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

Incluso nella scatola refrigerata è anche quanto segue (Vassoio di conservazione):  
(alla ricezione, conservare a temperature da 2 °C a 30 °C)

| Simbolo | Componente   | Quantità     |
|---------|--|--------------|
| AR      | <b>Soluzione di ricostituzione di amplificazione Aptima GC</b><br><i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>                     | 1 x 9,3 mL   |
| ER      | <b>Soluzione di ricostituzione enzimatica Aptima</b><br><i>Soluzione tamponata HEPES contenente un surfattante e glicerolo.</i>        | 1 x 3,3 mL   |
| PR      | <b>Soluzione di ricostituzione della sonda Aptima GC</b><br><i>Soluzione tamponata con succinato contenente &lt; 5% di detergente.</i> | 1 x 12,4 mL  |
| S       | <b>Reagente di selezione (Selection) Aptima</b><br><i>600 mM di soluzione tamponata con borato contenente surfattante.</i>             | 1 x 31 mL    |
|         | <b>Collari di ricostituzione</b>   | 3            |
|         | <b>Carte adesive protettive</b>  | 1 confezione |

Scatola non refrigerata Aptima Neisseria gonorrhoeae (scatola 2)  
(alla ricezione, conservare a temperature da 15 °C a 30 °C)

| Simbolo | Componente   | Quantità    |
|---------|--|-------------|
| TCR     | <b>Reagente Target Capture Aptima GC</b><br><i>Soluzione salina tamponata contenente fase solida e oligomeri di cattura.</i> | 1 x 22 mL   |
| W       | <b>Soluzione di lavaggio Aptima</b><br><i>10 mM di soluzione tamponata con HEPES contenente &lt; 2% di detergente.</i>       | 1 x 402 mL  |
| DF      | <b>Tampone per fluido di disattivazione Aptima</b><br><i>800 mM di soluzione tamponata con bicarbonato.</i>                  | 1 x 402 mL  |
| O       | <b>Reagente oleoso Aptima</b><br><i>Olio di silicone</i>   | 1 x 24,6 mL |

### Materiali richiesti ma disponibili separatamente

**Nota:** Per i materiali disponibili presso Hologic sono indicati i numeri di catalogo, se non diversamente specificato.

|   | <u>N. cat.</u> |
|---|----------------|
| Luminometro Leader HC+ (Leader HC+ Luminometer)   | 104747-01      |
| Sistema Target Capture Hologic (TCS) [Hologic Target Capture System (TCS)]  | 104555         |
| Incubatori e vortex   |                |
| 2 miscelatori vortex per unità multiprovetta (Multi-tube vortex mixers)   | 102160G        |
| 3 bagni di acqua circolante (Circulating water baths)<br>(62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)   | 104586         |
| 3 distanziatori per bagni di acqua (Water bath spacers)   | 104627         |
| OPPURE  |                |
| 2 bagni secchi/vortex SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexers)<br>Ulteriori bagni SB100 potrebbero essere richiesti con l'aumentare del volume delle analisi | 105524         |

|   | <u>N. cat.</u>  |
|---|-----------------|
| Kit Aptima Auto Detect  | 301048          |
| 2 pipettatori a ripetizione eppendorf (eppendorf Repeater Plus pipettors)   | 105725          |
| 2 pipettatori (pipettors), 1.000 µL RAININ PR1000   | 901715          |
| Pipettatore eppendorf (eppendorf pipettor), da 20 µL a 200 µL   | 105726          |
| Puntali per pipettatori a ripetizione (Repeat pipettor tips), 2,5 mL  | 21-381-329      |
| Puntali per pipettatori a ripetizione (Repeat pipettor tips), 5,0 mL  | 21-381-330      |
| Puntali per pipettatori a ripetizione (Repeat pipettor tips), 25,0 mL   | 21-381-115      |
| Puntali (Tips), stile P1000   | 105049          |
| <i>Puntale a diametro speciale disponibile solo presso Hologic</i>  |                 |
| Puntali per pipetta (Pipette tips) da 20 µL a 200 µL  | 705512 (Fisher) |
| Unità a dieci provette (Ten Tube Units, TTU)  | TU0022          |
| Vassoi con dieci puntali (Ten Tip Cassettes, TTC)   | 104578          |
| Kit unisex di raccolta campioni di tampone Aptima per campioni di tampone endocervicale e dell'uretra maschile  | 301041          |
| Kit di raccolta del campione di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili (Aptima Urine Specimen Collection Kit for Male and Female Urine Specimens)        | 301040          |
| Provette di trasporto del campione di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili (Aptima Urine Specimen Transport Tubes for Male and Female Urine Specimens) | 105575          |
| Kit di raccolta campioni di tampone multitest Aptima  | PRD-03546       |
| Kit di trasferimento dei campioni Aptima (Aptima Specimen Transfer Kit)   | 301154C         |
| Kit di trasferimento dei campioni Aptima (Aptima Specimen Transfer Kit)—Stampabile  | PRD-05110       |
| Standard di calibrazione SysCheck (SysCheck calibration standard)   | 301078          |
| Candeggina (Bleach), soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazione da 5% a 7% (da 0,7 M a 1,0 M)   | —               |
| Contenitori standard per la raccolta di urina, senza conservanti  | —               |
| Contenitore di plastica con coperchio grande  | —               |
| Cappucci penetrabili Aptima (Aptima penetrable caps)  | 105668          |
| Cappucci non penetrabili sostitutivi (Replacement non-penetrable caps)  | 103036A         |

## Materiali opzionali

|   | <u>N. cat.</u> |
|---|----------------|
| Kit controlli Aptima (Aptima Controls Kit)  | 301110         |
| Fluidi per dosaggio Aptima (Aptima Assay Fluids)  | 302002C        |
| <i>Soluzione di lavaggio Aptima, tampone per fluido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima</i> |                |

|   | <u>N. cat.</u>   |
|---|------------------|
| Potenziatore di candeggina (Bleach Enhancer) Hologic<br><i>per la pulizia ordinaria di superfici e attrezzature</i> | 302101           |
| Pannello di verifica della perizia STD (STD Proficiency Panel)  | 102325           |
| Puntali, 1.000 µL conduttivi, rilevatori del livello di liquido   | 10612513 (Tecan) |
| TECAN Freedom EVO 100/4 contenente  | 900932           |
| <i>Sistemi DTS 800 Aptima Combo 2</i>   |                  |
| <i>Piastra del piano (Deck Plate)</i>   | <i>105200</i>    |
| <i>Serbatoio del reagente (Reagent reservoir)</i><br><i>(modulo per quarto da 40 mL)</i>                            | <i>104765</i>    |
| <i>Serbatoio del reagente diviso (Split reagent reservoir)</i><br><i>(modulo per quarto da 19 mL x 2)</i>           | <i>104763</i>    |

## Procedura di analisi con i sistemi DTS

### A. Preparazione dell'apparecchiatura

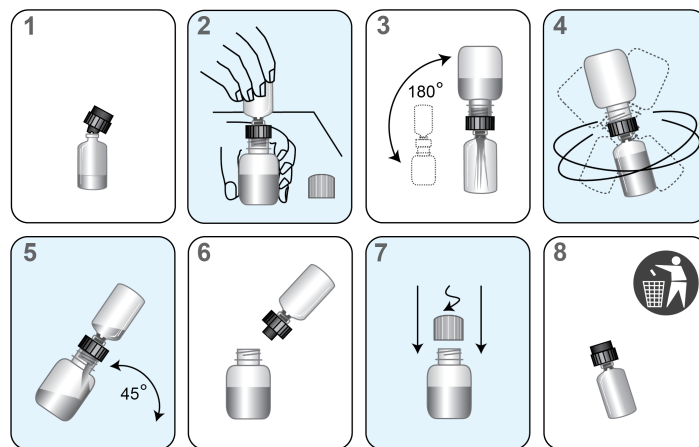
1. Regolare un bagno di acqua su 62 °C ± 1 °C [per cattura del target (target capture) e ibridazione del primer], un secondo bagno di acqua su 42 °C ± 1 °C (per l'amplificazione) ed un terzo bagno di acqua su 62 °C ± 1 °C (per l'HPA). Se si usa il Bagno secco/Vortex SB100™ (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer), consultare la *Scheda applicativa del Bagno secco/Vortex dell'SB100 (SB100 Application Sheet)*.
2. Prima di iniziare il dosaggio, passare sulle superfici di lavoro e sui pipettatori una soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici e i pipettatori per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verrà eseguita l'analisi con coperture da banco di laboratorio pulite, assorbenti e con parte posteriore plastificata.
3. Disporre un numero sufficiente di vassoi con dieci puntali nel Sistema Target Capture (TCS). Assicurarsi che la bottiglia di lavaggio del TCS sia piena di Soluzione di lavaggio Aptima e che il collettore di aspirazione sia collegato alla pompa di aspirazione. (Consultare il *Manuale d'uso del Sistema Target Capture [Target Capture System Operator's Manual]*.)

### B. Ricostituzione dei reagenti

**Nota:** Prima di iniziare il trasferimento dei campioni, occorre eseguire la ricostituzione dei reagenti.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione GC, enzimatico e sonda GC, unire i flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
  - a. Abbinare l'appropriata soluzione di ricostituzione al reagente liofilizzato. Le etichette sono codificate a colori per facilitare l'abbinamento corretto.
  - b. Aprire il flacone del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 1, Procedimento 1).
  - c. Aprire la bottiglia di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il cappuccio su una superficie di lavoro pulita e coperta.
  - d. Tenendo la bottiglia della soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura della bottiglia (Figura 1, Procedimento 2).

- e. Capovolgere lentamente la bottiglia e il flacone assemblati. Lasciare scendere la soluzione dalla bottiglia nel flacone (Figura 1, Procedimento 3).
- f. Agitare ruotando delicatamente la soluzione nel flacone per miscelarla. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 1, Procedimento 4).
- g. Attendere che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere di nuovo la bottiglia e il flacone assemblati, inclinandoli con un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, Procedimento 5). Lasciar scendere tutto il liquido di nuovo nella bottiglia.
- h. Rimuovere il collare di ricostituzione dalla bottiglia (Figura 1, Procedimento 6).
- i. Rimettere il cappuccio sul flacone. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, Procedimento 7).
- j. Smaltire il collare di ricostituzione e il flacone (Figura 1, Procedimento 8).



**Figura 1. Processo di ricostituzione dei Sistemi DTS**

2. I reagenti sonda GC, di amplificazione GC ed enzimatico precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C) prima di iniziare il dosaggio. Se il reagente sonda contiene precipitato che non ritorna in soluzione a temperatura ambiente, riscaldarlo a 62 °C per un periodo compreso fra 1 e 2 minuti. Dopo questo procedimento di riscaldamento, il reagente sonda può essere usato anche se resta del precipitato residuo. Dopo la risospensione, miscelare capovolgendo delicatamente, facendo attenzione a non creare schiuma.

**Nota:** Questo procedimento di capovolgimento va eseguito ogni volta che il precipitato viene portato in soluzione, vuoi mediante riscaldamento a 62 °C o mediante riscaldamento a temperatura ambiente.

3. Preparazione del reagente Target Capture di lavoro GC (wTCR GC)
  - a. Trasferire 20 mL di TCR GC in un contenitore dedicato, asciutto e pulito, di dimensioni appropriate.
  - b. Usando un micropipettatore, aggiungere 200 µL di TCR-B nel TCR GC.
  - c. Miscelare accuratamente la soluzione con un movimento rotatorio.
  - d. Etichettare il contenitore. Registrare le iniziali dell'operatore, la data di preparazione ed entrambi i numeri di lotto.

**Nota:** Per un numero inferiore di reazioni (campioni e controlli), usare la formula che segue per calcolare i volumi di TCR GC e TCR-B:

$$\text{Volume di TCR (mL)} = (\text{numero di reazioni} + 5 \text{ extra reazioni}) \times 0,1 \text{ mL}$$

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

### C. Target Capture

Il pipettatore a ripetizione usato nella cattura del target (target capture) e nell'amplificazione va dedicato esclusivamente a questi procedimenti. Per ulteriori informazioni, consultare la sezione *Avvertenze e precauzioni*.

#### *Approntamento delle rastrelliere*

1. Prima dell'analisi, lasciare che i controlli e i campioni raggiungano la temperatura ambiente.
2. **Non mettere i campioni nel vortex.**
3. Controllare visivamente che tutte le provette dei campioni soddisfino almeno uno dei seguenti criteri:
  - a. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima blu in una provetta di trasporto dei tamponi campione unisex.
  - b. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima rosa in una provetta di trasporto dei campioni di tampone vaginali o multitest.
  - c. Un volume finale di urina compreso tra le linee nere di riempimento di una provetta di trasporto dei campioni di urina.
  - d. L'assenza di un tampone nella provetta di trasporto dei campioni Aptima per i campioni di Pap liquidi in soluzione PreservCyt.
4. Prima di forarle, ispezionare le provette dei campioni:
  - a. Se una provetta di un campione contiene bollicine nello spazio fra il liquido e il cappuccio, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per eliminare le bollicine.
  - b. Se una provetta di un campione presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato quando sono state seguite le istruzioni per la raccolta, centrifugare la provetta per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non sia presente liquido nel cappuccio.
  - c. Se il livello del liquido in una provetta di un campione di urina non rientra fra le due righe indicatrici nere dell'etichetta, il campione deve essere rifiutato. Non forare una provetta troppo piena.
  - d. Se una provetta di un campione di urina contiene precipitato, riscaldare il campione a 37 °C per un massimo di 5 minuti. Nel caso in cui il precipitato non rientri in soluzione, assicurarsi che il precipitato non impedisca l'erogazione del campione.

**Nota:** La mancata osservanza dei procedimenti 4a - 4c potrebbe determinare un versamento di liquido dal cappuccio della provetta del campione.

5. Se occorre analizzare campioni con cappucci standard (non penetrabili), i campioni devono essere sottoposti a centrifuga per 5 minuti a una forza centrifuga relativa (RCF) di 420 per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta prima di togliere il cappuccio. **Evitare gli schizzi e la contaminazione incrociata.**
6. Nella rastrelliera per unità a dieci provette (TTU), disporre abbastanza TTU da poter alloggiare i controlli ed i campioni.
7. Se si desidera usare una lista di lavoro, crearne una a questo punto. Per istruzioni su come creare una lista di lavoro, consultare il *Manuale d'uso del Software di dosaggio Aptima (Aptima Assay Software Operator's Manual)*.
8. Miscelare accuratamente il reagente wTCR GC. Usando il pipettatore a ripetizione, aggiungere 100 µL in ciascun tubo di reazione.
9. **Il primo tubo di reazione del dosaggio deve contenere il controllo negativo e il secondo tubo di reazione deve contenere il controllo positivo.**
  - a. L'etichetta del controllo negativo per il Dosaggio Aptima GC è rosa. Il testo dell'etichetta identifica il controllo negativo come "CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC". L'etichetta del controllo positivo per il Dosaggio Aptima GC è verde-azzurra. Il testo dell'etichetta identifica il controllo positivo come "CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT".
  - b. Reggere la provetta del controllo negativo (provetta con etichetta rosa) con una mano o metterla in una rastrelliera. Usando un micropipettatore, forare il cappuccio, facendo attenzione a non spingere il puntale sul fondo della provetta. Aggiungere 400 µL di controllo negativo (provetta con etichetta rosa) al primo tubo di reazione. Nello stesso modo, e usando un nuovo puntale di pipetta, aggiungere 400 µL del controllo positivo, (provetta con etichetta verde-azzurra) al secondo tubo di reazione.
10. Continuare la procedura di approntamento delle rastrelliere aggiungendo 400 µL di ciascun campione nei restanti tubi di reazione. Usare un nuovo puntale di pipetta per ciascun campione e controllo. Il volume accettabile di controllo o campione aggiunto ad un tubo di reazione è di 400 µL ± 100 µL. Per ulteriori informazioni, consultare la sezione *Note procedurali, Pipettazione di controlli e campioni*.

### Target Capture

L'uso del Sistema Target Capture Hologic viene descritto nel *Manuale d'uso del Sistema Target Capture (Target Capture System Operator's Manual)*. Se si usa il Bagno caldo/ Vortex SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer), consultare la *Scheda applicativa dell'SB100 (SB100 Application Sheet)*.

11. Coprire le TTU con le carte adesive protettive e agitare delicatamente a mano la rastrelliera. **Non metterla sul vortex.** Incubare la rastrelliera a 62 °C ± 1 °C in un bagno di acqua per 30 ± 5 minuti.
12. Estrarre la rastrelliera dal bagno di acqua e asciugare il fondo delle provette su un materiale assorbente.
13. Assicurarsi che le carte adesive protettive siano bene alloggiare. Se necessario, sostituirle con altre carte adesive protettive nuove e sigillare bene le TTU.
14. Agitare la rastrelliera per 60 secondi, mettendola sul miscelatore vortex per unità multiprovetta. Per dettagli in merito consultare la sezione *Note procedurali, Agitazione su vortex*. Iniziare l'agitazione su vortex entro 2 minuti dalla rimozione della rastrelliera dal bagno di acqua.
15. Senza rimuovere le carte adesive protettive, incubare la rastrelliera a temperatura ambiente per 30 ± 5 minuti.
16. Disporre la rastrelliera sulla base magnetica del TCS per 5-10 minuti.



17. Eseguire il priming della linea della pompa della stazione di dispensazione pompando Soluzione di lavaggio Aptima attraverso il collettore di dispensazione. Pompare attraverso il sistema abbastanza liquido da eliminare le bolle d'aria nella linea e da far erogare da tutti e dieci i beccucci un flusso costante di liquido.
18. Accendere la pompa di aspirazione e scollegare il collettore di aspirazione in corrispondenza del primo connettore fra il collettore di aspirazione e la bottiglia di cattura. Assicurarsi che il misuratore del vuoto soddisfi la specifica di verifica perdite d'aria.<sup>2</sup> Per ottenere questa lettura potrebbero essere necessari 15 secondi. Ricollegare il collettore di aspirazione e assicurarsi che il misuratore del vuoto soddisfi la specifica di livello del vuoto. Lasciare accesa la pompa di aspirazione fino al completamento di tutti i procedimenti di cattura del target (target capture) e fino a quando i tubi del collettore di aspirazione non risultano asciutti.
19. Collegare saldamente il collettore di aspirazione alla prima serie di puntali. Aspirare tutto il liquido abbassando i puntali nella prima TTU fino a quando non entrano brevemente a contatto con il fondo delle provette. Non tenere i puntali a contatto con il fondo delle provette.
20. Al termine dell'aspirazione, espellere i puntali nel loro TTC originale. Ripetere i procedimenti di aspirazione per le TTU restanti, usando per ogni campione un puntale dedicato.
21. Disporre il collettore di dispensazione sopra ciascuna TTU e, usando la pompa della stazione di dispensazione, erogare 1,0 mL di Soluzione di lavaggio Aptima in ciascuna provetta della TTU.
22. Coprire le provette con una carta adesiva protettiva e rimuovere la rastrelliera dalla base magnetica del TCS. Agitare la rastrelliera una volta sul miscelatore vortex per unità multiprovetta. Per dettagli in merito consultare la sezione *Note procedurali, Agitazione su vortex*.
23. Disporre la rastrelliera sulla base magnetica del TCS per 5-10 minuti.
24. Aspirare tutto il liquido come descritto nei procedimenti 19 e 20.
25. Dopo l'aspirazione finale, togliere la rastrelliera dalla base magnetica del TCS e ispezionare visivamente le provette per assicurare che tutto il liquido sia stato aspirato e che tutte le provette contengano grani di particelle magnetiche. Se si vede del liquido, disporre di nuovo la rastrelliera sulla base magnetica del TCS per 2 minuti e ripetere l'aspirazione per quella TTU usando gli stessi puntali usati in precedenza per ciascun campione.

**Nota:** *Se una volta completata l'aspirazione è visibile un grano di particella magnetica, il tubo può essere accettato. Se non è visibile alcun grano, il campione va risottoposto ad analisi. Se lo stesso campione non contiene un grano di particella magnetica a questo stadio di una seduta successiva, questo potrebbe indicare un problema specifico del campione. In questo caso si consiglia di fare una seconda raccolta del campione.*

#### D. Amplificazione

Se si usa il Bagno caldo/Vortex SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer), consultare la *Scheda applicativa dell'SB100 (SB100 Application Sheet)*.

1. Usando il pipettatore a ripetizione, aggiungere a ciascun tubo di reazione 75 µL del reagente di amplificazione GC ricostituito. Tutte le miscele di reazione nella rastrelliera dovrebbero ora essere rosse.
2. Usando il pipettatore a ripetizione, aggiungere a ciascun tubo di reazione 200 µL di reagente oleoso.

---

<sup>2</sup> Consultare la scheda delle specifiche di aspirazione del Sistema Target Capture, situata sul retro del *Manuale d'uso del Sistema Target Capture (Target Capture System Operator's Manual)* o contattare l'Assistenza tecnica Hologic.

3. Coprire le provette con una carta adesiva protettiva e agitarle su un miscelatore vortex per unità multiprovetta.
4. Incubare la rastrelliera in un bagno di acqua a  $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  per  $10 \pm 5$  minuti.
5. Trasferire la rastrelliera in un bagno di acqua a  $42\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  e incubare per  $5 \pm 2$  minuti.
6. Con la rastrelliera nel bagno di acqua, togliere delicatamente la carta adesiva protettiva e poi, usando il pipettatore a ripetizione, aggiungere  $25\text{ }\mu\text{L}$  del reagente enzimatico ricostituito a ciascun tubo di reazione. Tutte le miscele di reazione dovrebbero ora essere di colore arancione.
7. Coprire immediatamente le provette con una carta adesiva protettiva nuova, rimuovere la rastrelliera dal bagno di acqua e miscelare i tubi di reazione agitando delicatamente la rastrelliera a mano.
8. Incubare la rastrelliera in un bagno di acqua a  $42\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  per  $60 \pm 15$  minuti.

E. Dosaggio con protezione dell'ibridizzazione (HPA)

Se si usa il Bagno caldo/Vortex SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer), consultare la *Scheda applicativa dell'SB100 (SB100 Application Sheet)*.

Il pipettatore a ripetizione usato nei procedimenti di ibridizzazione e selezione va dedicato esclusivamente a questi procedimenti. Vedere *Avvertenze e precauzioni*.

1. Ibridizzazione

- a. Togliere la rastrelliera dal bagno di acqua e trasferirla all'area dedicata all'HPA. Usando il pipettatore a ripetizione, aggiungere a ciascun tubo di reazione  $100\text{ }\mu\text{L}$  del reagente sonda GC ricostituito. Tutte le miscele di reazione dovrebbero ora essere di colore giallo.
- b. Coprire le provette con una carta adesiva protettiva e agitare la rastrelliera su un miscelatore vortex per unità multiprovetta.
- c. Incubare la rastrelliera a  $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  in un bagno di acqua per  $20 \pm 5$  minuti.
- d. Togliere la rastrelliera dal bagno di acqua e incubarla a temperatura ambiente  $5 \pm 1$  minuti.

2. Selezione

- a. Usando il pipettatore a ripetizione, aggiungere a ciascun tubo di reazione  $250\text{ }\mu\text{L}$  di reagente di selezione (Selection). Tutte le miscele di reazione dovrebbero ora essere di colore rosso.
- b. Coprire le provette con carta adesiva protettiva, agitare su vortex la rastrelliera per 10 secondi o fino ad ottenere un colore uniforme, e incubare la rastrelliera in un bagno di acqua a  $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  per  $10 \pm 1$  minuti.
- c. Togliere la rastrelliera dal bagno di acqua.

3. Rilevamento

Il rilevamento va eseguito a temperature comprese fra  $18\text{ °C}$  e  $28\text{ °C}$ .

- a. Incubare la rastrelliera a temperature comprese fra  $18\text{ °C}$  e  $28\text{ °C}$  per  $15 \pm 3$  minuti.

**Nota:** Questo intervallo di temperatura è di importanza critica per le prestazioni del dosaggio.

- b. Per l'uso del Luminometro Leader HC+ e del Software di dosaggio Aptima, consultare il *Manuale d'uso del Luminometro Leader HC+ (Leader HC+ Luminometer Operator's Manual)* ed il *Manuale d'uso del Software di dosaggio Aptima (Aptima Assay Software Operator's Manual)*.

- c. Assicurarsi di disporre di volumi sufficienti di Auto Detect 1 e 2 per completare le analisi.
- d. Preparare il Luminometro Leader HC+ mettendo una TTU vuota nella posizione di vassoio numero 1 ed eseguendo il protocollo **Wash (Lavaggio)**.
- e. Caricare le TTU nel luminometro.
- f. Eseguire l'accesso al computer. Fare clic su **New Run** (Nuova seduta), selezionare l'Aptima GC Assay Protocol (protocollo del Dosaggio **Aptima GC**) e inserire il numero di provette (controlli e campioni). Fare clic su **Next** (Avanti) per iniziare la seduta.

**Nota:** La seduta va completata entro 2 ore dal termine dell'incubazione del procedimento di selezione.

- g. Preparare il fluido di disattivazione miscelando in un contenitore di plastica con grande coperchio volumi uguali di soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazioni dal 5% al 7% (da 0,7 M a 1,0 M) e tampone per fluido di disattivazione Aptima. Etichettare e scrivere la data di scadenza sul contenitore di plastica. Il fluido di disattivazione è stabile per 4 settimane a temperatura ambiente. Smaltire il fluido di disattivazione dopo 4 settimane o dopo aver disattivato 100 campioni trattati (a seconda di quale occorrenza si verifichi per prima).
- h. Dopo aver rimosso le TTU usate dal luminometro, disporre le TTU nel contenitore del fluido di disattivazione. Lasciare le TTU nel contenitore per almeno 15 minuti prima dello smaltimento. Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio.

## Note procedurali

### A. Controlli

Per lavorare in modo adeguato con il software di dosaggio Aptima, il controllo negativo per GC, etichettato come "CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC", deve trovarsi nella prima posizione della prima TTU. Il controllo positivo per GC, etichettato come "CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT", deve trovarsi nella seconda posizione della prima TTU. Il posizionamento in posizioni erranee causa il fallimento della seduta. Qualsiasi ulteriore controllo deve essere inserito come campione del paziente e monitorato dall'operatore per l'accettabilità. Il controllo positivo per CT serve come controllo negativo per il Dosaggio Aptima GC.

### B. Pipettazione di controlli e campioni

Il volume di controllo o campione aggiunto al tubo di reazione deve essere di  $400 \mu\text{L} \pm 100 \mu\text{L}$ . Si raccomanda di ispezionare visivamente il volume pipettato nel tubo di reazione, per assicurare il trasferimento del volume appropriato. Per ottenere risultati accurati occorre un volume appropriato di controllo o campione. Se non è stato pipettato il volume appropriato, ripipettare in un nuovo tubo di reazione il reagente wTCR GC e il controllo o il campione.

### C. Reagenti

Durante la conservazione, la soluzione di ricostituzione del reagente sonda potrebbe creare precipitato. Se questo dovesse verificarsi, riscaldare la soluzione di ricostituzione del reagente sonda a  $62^\circ\text{C}$  per un periodo compreso fra 1 e 2 minuti. Dopo il procedimento di riscaldamento, la soluzione di ricostituzione del reagente sonda può essere usata anche se resta del precipitato residuo. Dopo la risospensione, miscelare il flacone capovolgendolo delicatamente, facendo attenzione a non creare schiuma.

#### D. Temperatura

1. I procedimenti di cattura del target (target capture), amplificazione, ibridizzazione e selezione dipendono dalla temperatura. Di conseguenza, è essenziale che i bagni di acqua vengano mantenuti entro gli intervalli di temperature specificati per essi.
2. Per temperatura ambiente si intende una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C.
3. I procedimenti di rilevamento nel dosaggio vanno eseguiti a temperature comprese fra 18 °C e 28 °C.

#### E. Tempi

Le reazioni di cattura del target (target capture), amplificazione, ibridizzazione e selezione dipendono dai tempi. Attenersi ai tempi specificati in *Procedura di analisi con i sistemi DTS*.

#### F. Agitazione su vortex

Un'adeguata agitazione su vortex è importante per ottenere buone prestazioni con il Dosaggio Aptima GC. Quando viene raggiunto un movimento di vortex adeguato, la sospensione gira ad una velocità che solleva la soluzione nella metà superiore della provetta. Questa manipolazione (vortex) viene mantenuta per periodi di tempo specificati. Per agitare le reazioni, impostare la velocità del miscelatore vortex per unità multiprovetta sul valore minimo, fissare la rastrelliera e accendere l'alimentazione. Aumentare lentamente la velocità fino a quando il liquido non si alza a metà della provetta. Agitare per 10 secondi, la quantità di tempo indicata, o fino a quando il colore non risulti uniforme. Poi, prima di spegnere il miscelatore vortex per unità multiprovetta e rimuovere la rastrelliera, impostare la velocità sul valore minimo. Le miscele di reazione non devono mai entrare a contatto con le carte adesive protettive.

#### G. Bagni di acqua

1. Il livello dell'acqua nei bagni di acqua va mantenuto ad una profondità da 3,8 a 5 cm (da 1,5 a 2,0 pollici), misurando dal vassoio di supporto in metallo (sul fondo del bagno di acqua) fino alla superficie dell'acqua. Questo assicura un adeguato trasferimento del calore.
2. Per evitare la contaminazione incrociata, i bagni di acqua vanno dedicati ad un procedimento specifico nell'ambito del dosaggio.

#### H. Decontaminazione

##### 1. Superfici e pipettatori

Le superfici dei banchi del laboratorio e i pipettatori devono essere decontaminati regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Lasciare la soluzione l'ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Le soluzioni a base di cloro possono provocare la vaiolatura di apparecchiature e metallo. Risciacquare accuratamente le apparecchiature con acqua, onde evitare la vaiolatura.

## 2. Collettore di aspirazione del TCS

- a. Disporre un nuovo vassoio con dieci puntali (TTC) nell'apposita rastrelliera. Accendere la pompa di aspirazione. Collegare il collettore di aspirazione ai puntali nel TTC. Aspirare la soluzione di lavaggio restante nella vaschetta di condizionamento della stazione di dispensazione della soluzione di lavaggio. (Allontanare il collettore di dispensazione.)
- b. Versare nella vaschetta di condizionamento almeno 100 mL di soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazioni comprese fra 0,5% e 0,7% (da 0,07 M a 0,1 M), o se si preferisce fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Aspirare tutta la soluzione attraverso il collettore di aspirazione.
- c. Versare nella vaschetta di condizionamento almeno 100 mL di acqua deionizzata. Aspirare tutta l'acqua attraverso il collettore di aspirazione.
- d. Espellere i puntali nel loro TTC originario.
- e. Lasciare accesa la pompa di aspirazione finché il tubo del collettore non risulta asciutto, per prevenire il riflusso.
- f. Decontaminare le superfici del collettore di aspirazione come descritto in *Unità TCS*.

## 3. Contenitore degli scarti del TCS

Quando la bottiglia degli scarti è piena al 25%, oppure una volta alla settimana, rimuoverla del Sistema Target Capture.

- a. Spegnerla pompa di aspirazione e lasciare equalizzare la pressione di aspirazione.
- b. Rilasciare i raccordi di scollegamento rapido fra la bottiglia degli scarti e il flacone di traboccamento, e tra la bottiglia degli scarti e il collettore di aspirazione.
- c. Rimuovere la bottiglia degli scarti dal contenitore di cattura sotto vuoto.
- d. Rimuovere il cappuccio e aggiungere con cautela alla bottiglia 400 mL di soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazioni comprese fra 5% e 7% (da 0,7 M a 1,0 M), o 1 L se si usa una bottiglia degli scarti da 10 L.

**Nota:** Questo procedimento può essere eseguito all'interno di un cappuccio antifumi per evitare di liberare fumi nel laboratorio.

- e. Incappucciare la bottiglia degli scarti e agitarne delicatamente il contenuto con un movimento rotatorio fino a miscelarlo completamente.
- f. Lasciare ferma la bottiglia degli scarti per 15 minuti e poi smaltirne il contenuto (scarti).
- g. Risciacquare la bottiglia degli scarti con acqua per eliminare eventuali scarti restanti.
- h. Incappucciare la bottiglia degli scarti vuota e metterla nel contenitore di cattura sotto vuoto. Collegare il raccordo di scollegamento rapido all'unità TCS. Smaltire con cautela entrambi i guanti.

## 4. Unità TCS

Pulire le superfici dell'unità TCS, il collettore di aspirazione e i puntali di espulsione del tampone di lavaggio con salviette di carta inumidite di soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Dopo il procedimento con ipoclorito di sodio, risciacquare con acqua e poi asciugare completamente le superfici con salviette di carta.

## 5. Rastrelliere

Immergere le rastrelliere in una soluzione di ipoclorito di sodio a concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M), assicurandosi che siano coperte dalla soluzione di ipoclorito di sodio. Tenere le rastrelliere immerse per 10 minuti. Un'esposizione più prolungata potrebbe danneggiarle. Risciacquare accuratamente le rastrelliere con acqua, disporle su un cuscinetto assorbente pulito e lasciarle asciugare bene all'aria. Per estendere la durata di vita delle rastrelliere, farle asciugare in posizione eretta, non capovolte.

## I. Contaminazione del dosaggio

1. Se non si presta abbastanza attenzione durante il protocollo del dosaggio, potrebbe verificarsi l'introduzione di materiali contaminanti.
2. Le TTU vanno decontaminate nel fluido di disattivazione come descritto nella sezione *Rilevamento*. Non riutilizzare le TTU.
3. Eseguire una regolare decontaminazione delle apparecchiature e delle superfici di lavoro, come descritto nella sezione *Note procedurali, Decontaminazione*.
4. Come in qualsiasi sistema di reazione, il talco eccessivo in alcuni guanti potrebbe causare la contaminazione di provette aperte. Si consigliano guanti privi di talco.

## J. Protocollo del laboratorio per il monitoraggio della contaminazione per i sistemi DTS

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

Per monitorare la contaminazione del laboratorio, può essere eseguita la seguente procedura usando il Kit unisex di raccolta campioni di tampone Aptima per campioni di tamponi endocervicali e dell'uretra maschile.

1. Etichettare le provette di trasporto del tampone con i numeri corrispondenti alle aree da analizzare.
2. Rimuovere il tampone di raccolta del campione (tampone su bastoncino blu con stampa verde) dalla confezione, bagnare il tampone nel mezzo di trasporto del tampone ed eseguire un tampone dell'area designata con un movimento circolare.
3. Inserire immediatamente il tampone nella sua provetta di trasporto.
4. Spezzare con cautela il bastoncino del tampone in corrispondenza della riga incisa, facendo attenzione a evitare di schizzarne il contenuto.
5. Rimettere saldamente il cappuccio sulla provetta di trasporto del tampone.
6. Ripetere i procedimenti da 2 a 5 per ciascuna area per la quale va eseguito un tampone.
7. Analizzare il tampone usando il Dosaggio Aptima GC secondo le istruzioni della sezione *Procedura di analisi con i sistemi DTS*.

Se i risultati sono GC positivi o dubbi (vedere la sezione *Interpretazione dell'analisi – QC/ Risultati relativi ai pazienti*), la superficie potrebbe essere contaminata e va decontaminata con una soluzione di ipoclorito di sodio come raccomandato nella sezione *Procedura di analisi con i sistemi DTS, Preparazione dell'apparecchiatura*.

**Nota:** Se si sospetta la contaminazione del bagno di acqua, esso può essere analizzato usando la procedura di analisi del campione di urina, aggiungendo 2,0 mL dell'acqua del bagno ad una provetta di trasporto del campione di urina.

---

K. Individuazione e risoluzione dei problemi

1. Valori bassi positivi dei controlli possono essere causati da temperature erranee durante i vari procedimenti del dosaggio, o dal lasciare andare oltre il periodo di tempo raccomandato il periodo della selezione nel procedimento relativo.
2. Background elevati possono verificarsi se il tempo della selezione nel procedimento relativo viene accorciato, se la temperatura della selezione non è corretta o se si verifica una miscelatura insufficiente dopo l'aggiunta del reagente di selezione (Selection).
3. Se il controllo negativo Aptima per GC, etichettato come "CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC", è positivo o dubbio per GC, vedere la sezione *Note procedurali*, *Contaminazione del dosaggio* per ulteriori informazioni.

## Sistema Tigris DTS

Di seguito sono elencati i reagenti del Dosaggio Aptima GC per il Sistema Tigris DTS. Sono indicati anche i simboli di identificazione dei reagenti, accanto al rispettivo nome del reagente.

### Reagenti e materiali in dotazione

**Nota:** per informazioni sulle indicazioni di pericolo e i consigli di prudenza che possono essere associati ai reagenti, consultare la libreria delle schede di sicurezza (Safety Data Sheet Library) all'indirizzo [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

#### Kit per Dosaggio Neisseria gonorrhoeae Aptima

100 test (2 scatole e 1 kit controlli) (N. cat. 303092)

**Scatola refrigerata Dosaggio Aptima Neisseria gonorrhoeae (Scatola 1 di 2)**  
(alla ricezione, conservare a temperature da 2 °C a 8 °C)

| Simbolo      | Componente   | Quantità        |
|--------------|--|-----------------|
|              |  | Kit da 100 test |
| <b>A</b>     | <b>Reagente di amplificazione Aptima GC</b><br><i>Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di agente strutturante.</i>              | 1 flacone       |
| <b>E</b>     | <b>Reagente enzimatico Aptima</b><br><i>Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente &lt; 10% di reagente strutturante.</i> | 1 flacone       |
| <b>P</b>     | <b>Reagente sonda Aptima GC</b><br><i>Sonde di DNA non infettive chemiluminescenti liofilizzate in soluzione tamponata con succinato contenente &lt; 5% di detergente.</i>     | 1 flacone       |
| <b>TCR-B</b> | <b>Reagente B Target Capture Aptima</b><br><i>Acido nucleico non infettivo in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di detergente.</i>  | 1 x 0,30 mL     |



**Scatola non refrigerata Dosaggio Aptima Neisseria gonorrhoeae (Scatola 2 di 2)**  
(alla ricezione, conservare a temperature da 15 °C a 30 °C)

| Simbolo | Componente   | Quantità        |  |
|---------|--|-----------------|--|
|         |  | Kit da 100 test |  |
| AR      | <b>Soluzione di ricostituzione di amplificazione Aptima GC</b><br><i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>                     | 1 x 11,9 mL     |  |
| ER      | <b>Soluzione di ricostituzione enzimatica Aptima</b><br><i>Soluzione tamponata HEPES contenente un surfattante e glicerolo.</i>        | 1 x 6,3 mL      |  |
| PR      | <b>Soluzione di ricostituzione della sonda Aptima GC</b><br><i>Soluzione tamponata con succinato contenente &lt; 5% di detergente.</i> | 1 x 15,2 mL     |  |
| S       | <b>Reagente di selezione (Selection) Aptima</b><br><i>600 mM di soluzione tamponata con borato contenente surfattante.</i>             | 1 x 43,0 mL     |  |
| TCR     | <b>Reagente Target Capture Aptima GC</b><br><i>Soluzione salina tamponata contenente fase solida e oligomeri di cattura.</i>           | 1 x 26,0 mL     |  |
|         | <b>Collari di ricostituzione</b>   | 3               |  |
|         | <b>Scheda dei codici a barre del Lotto mastro</b>  | 1 scheda        |  |

**Kit controlli Aptima (Aptima Controls Kit)**  
(alla ricezione, conservare a temperature da 2 °C a 8 °C)

| Simbolo     | Componente  | Quantità   |
|-------------|---|------------|
| PGC/<br>NCT | <b>Controllo positivo, GC / Controllo negativo, CT Aptima</b><br><i>Acido nucleico di GC non infettivo in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di detergente. Ciascun campione di 400 µL contiene l'equivalente stimato di rRNA di 50 cellule di GC (250 fg/dosaggio*).</i> | 5 x 1,7 mL |
| PCT/<br>NGC | <b>Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC Aptima</b><br><i>Acido nucleico di CT non infettivo in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di detergente. Ogni campione di 400 µL contiene l'equivalente stimato di rRNA di 1 IFU di CT (5 fg/dosaggio*).</i>           | 5 x 1,7 mL |

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

**Materiali richiesti ma disponibili separatamente**

**Nota:** Per i materiali disponibili presso Hologic sono indicati i numeri di catalogo, se non diversamente specificato.

|   | <u>N. cat.</u>   |
|---|------------------|
| Sistema Tigris DTS  | 105118           |
| Kit fluidi per dosaggio Aptima (Aptima Assay Fluids Kit)<br><i>(soluzione di lavaggio Aptima, tampone per fluido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima)</i>   | 302382           |
| Kit Aptima Auto Detect  | 301048           |
| Kit conservante del liquido del sistema Aptima (Aptima System Fluid Preservative Kit)   | 302380           |
| Puntali da 1.000 µL, conduttivi, rilevatori di liquido (Tips, 1.000 µL conductive, liquid sensing)  | 10612513 (Tecan) |
| Kit di analisi del Sistema Tigris DTS contenente  | 301191           |
| Unità multiprovetta (Multi-tube Units, MTU) 104772-02   |                  |
| Kit MTU/Contenitore della sacca di scarto dei puntali (MTU-Tiplet Waste Bag Kit) 900907   |                  |
| Deflettori scarti MTU (MTU Waste Deflectors) 900931   |                  |
| Coperchi scarti MTU (MTU Waste Covers) 105523   |                  |
| Kit di trasferimento dei campioni Aptima (Aptima Specimen Transfer Kit)<br><i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>  | 301154C          |
| Kit di trasferimento dei campioni Aptima (Aptima Specimen Transfer Kit)—Stampabile<br><i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>                               | PRD-05110        |
| Kit di raccolta campioni di tampone multitest Aptima  | PRD-03546        |
| Kit unisex di raccolta campioni di tampone Aptima per campioni di tampone endocervicale e dell'uretra maschile  | 301041           |
| Kit di raccolta del campione di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili (Aptima Urine Specimen Collection Kit for Male and Female Urine Specimens)        | 301040           |
| Provette di trasporto del campione di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili (Aptima Urine Specimen Transport Tubes for Male and Female Urine Specimens) | 105575           |
| Candeggina (Bleach), soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazione da 5% a 7% (da 0,7 M a 1,0 M)   | —                |
| Acqua per il Sistema Tigris DTS<br><i>consultare il Manuale d'uso del Sistema Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual) per le specifiche tecniche</i>             | —                |
| Guanti monouso  | —                |
| Standard di calibrazione SysCheck (SysCheck calibration standard)   | 301078           |
| Cappucci penetrabili Aptima (Aptima penetrable caps)  | 105668           |
| Cappucci non penetrabili sostitutivi (Replacement non-penetrable caps)  | 103036A          |

|   | <u>N. cat.</u>               |
|---|------------------------------|
| Tappi sostitutivi (Replacement caps) per kit da 100 test                              | —                            |
| <i>Soluzioni di ricostituzione dei reagenti sonda, enzimatici e di amplificazione</i> | <i>CL0041 (100 cappucci)</i> |
| <i>Reagente di selezione (Selection) e TCR</i>  | <i>501604 (100 cappucci)</i> |

## Materiali opzionali

|   | <u>N. cat.</u> |
|---|----------------|
| Kit controlli Aptima (Aptima Controls Kit)  | 301110         |
| Potenziatore di candeggina (Bleach Enhancer) Hologic<br><i>per la pulizia ordinaria di superfici e attrezzature</i> | 302101         |

## Procedura di analisi con il Sistema Tigris DTS

**Nota:** Consultare il Manuale d'uso del Sistema Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual) per ulteriori informazioni procedurali su questo sistema.

### A. Preparazione dell'area di lavoro

Pulire le superfici di lavoro destinate alla preparazione di reagenti e campioni. Pulire le superfici di lavoro con un panno imbevuto di soluzione di ipoclorito di sodio a concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati i reagenti e i campioni con coperture da banco di laboratorio pulite, assorbenti e con parte posteriore plastificata

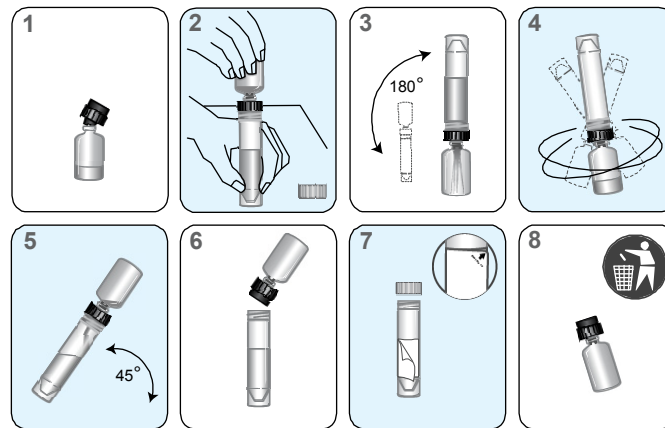
### B. Ricostituzione dei reagenti/Preparazione di un nuovo kit

**Nota:** La ricostituzione dei reagenti andrebbe eseguita prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Sistema Tigris DTS.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione GC, enzimatico e sonda GC, unire le bottiglie di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
  - a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al proprio reagente liofilizzato. Prima di fissare il collare di ricostituzione, assicurarsi che la soluzione di ricostituzione ed il reagente liofilizzato presentino etichette di colore uguale.
  - b. Controllare i numeri di lotto sulla scheda dei codici a barre del lotto di riferimento per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
  - c. Aprire il flacone del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 2, Procedimento 1).
  - d. Aprire la bottiglia di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il cappuccio su una superficie di lavoro pulita e coperta.
  - e. Tenendo la bottiglia della soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura della bottiglia (Figura 2, Procedimento 2).

- f. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati. Lasciare scendere la soluzione dalla bottiglia nel flacone di vetro (Figura 2, Procedimento 3).
- g. Agitare ruotando delicatamente la soluzione nel flacone per miscelarla. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 2, Procedimento 4).
- h. Attendere che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere di nuovo i due flaconi assemblati, inclinandoli con un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 2, Procedimento 5). Lasciar ridiscendere tutto il liquido nel flacone di plastica.
- i. Rimuovere il collare di ricostituzione dalla fiala di vetro (Figura 2, Procedimento 6).
- j. Incappucciare di nuovo la bottiglia.
  - Per le bottiglie da 100 test, annotare direttamente sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 3).
- k. Rimuovere il collare di ricostituzione e il flacone di vetro (Figura 2, Procedimento 8).

**Avvertenza:** Evitare che si formi schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevazione dei livelli nel Sistema Tigris DTS.



**Figura 2. Processo di ricostituzione con il Sistema Tigris DTS**

2. Preparazione del reagente di cattura del target di lavoro GC (wTCR GC) per il kit da 100 test
  - a. Accoppiare i flaconi appropriati di TCR GC e TCR-B.
  - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sulla scheda dei codici a barre del lotto di riferimento per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
  - c. Aprire il flacone di TCR GC e disporre il cappuccio su una superficie di lavoro pulita e coperta.
  - d. Aprire il flacone di TCR-B e versarne l'intero contenuto nel flacone di TCR GC. È normale che nel flacone di TCR-B resti una piccola quantità di liquido.
  - e. Incappucciare il flacone di TCR GC e agitare la soluzione ruotandola delicatamente per miscelare il contenuto. Evitare di creare schiuma durante questo procedimento.
  - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
  - g. Smaltire il flacone e il cappuccio del TCR-B.
3. Preparazione del reagente Selection
  - a. Controllare il numero di lotto sul flacone di reagente per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sul foglio dei codici a barre dei lotti master.
  - b. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

**Nota:** Miscelare a fondo capovolgendo delicatamente i tutti i reagenti prima di caricarli nel sistema. Evitare di creare schiuma mentre si capovolgono i reagenti.

C. Preparazione dei reagenti (per reagenti precedentemente ricostituiti)

1. I reagenti di amplificazione GC, enzimatico e sonda GC precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C) prima di iniziare il dosaggio.
2. Se il reagente sonda GC ricostituito contiene precipitato che non rientra in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare il flacone chiuso con il cappuccio ad una temperatura che non superi i 62 °C per un periodo compreso fra 1 e 2 minuti. Dopo questo procedimento di riscaldamento, il reagente sonda GC può essere usato anche se resta del precipitato residuo. Prima di caricarlo sul sistema, miscelare il reagente sonda GC capovolgendolo, facendo attenzione a non produrre schiuma.
3. Miscelare a fondo ciascun reagente capovolgendo delicatamente il flacone prima di caricarlo nel sistema. Evitare di creare schiuma mentre si capovolgono i reagenti.
4. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Sistema Tigris DTS riconosce e rifiuta i flaconi riempiti fino all'orlo.

D. Manipolazione dei campioni

1. Prima dell'analisi, lasciare che i controlli e i campioni raggiungano la temperatura ambiente.
2. **Non mettere i campioni nel vortex.**
3. Controllare visivamente che tutte le provette dei campioni soddisfino almeno uno dei seguenti criteri:
  - a. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima blu in una provetta di trasporto dei tamponi campione unisex.
  - b. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima rosa in una provetta di trasporto dei campioni di tampone vaginali o multitest.
  - c. Un volume finale di urina compreso tra le linee nere di riempimento di una provetta di trasporto dei campioni di urina.
  - d. L'assenza di un tampone nella provetta di trasporto dei campioni Aptima per i campioni di Pap liquidi in soluzione PreservCyt.
4. Ispezionare le provette dei campioni prima di caricarle sulla rastrelliera.
  - a. Se una provetta di un campione contiene bollicine nello spazio fra il liquido e il cappuccio, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per eliminare le bollicine.
  - b. Se una provetta di un campione presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato quando sono state seguite le istruzioni per la raccolta, centrifugare la provetta per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non sia presente liquido nel cappuccio.
  - c. Se il livello del liquido in una provetta di un campione di urina non rientra fra le due righe indicatrici nere dell'etichetta, il campione deve essere rifiutato. Non forare una provetta troppo piena.
  - d. Se una provetta di un campione di urina contiene precipitato, riscaldare il campione a 37 °C per un massimo di 5 minuti. Nel caso in cui il precipitato non rientri in soluzione, assicurarsi che il precipitato non impedisca l'erogazione del campione.

**Nota:** La mancata osservanza dei procedimenti 4a - 4c potrebbe determinare un versamento di liquido dal cappuccio della provetta del campione.

**Nota:** Da ciascun campione possono essere analizzate fino a 3 aliquote separate. I tentativi di pipettare più di 3 aliquote dalla provetta dei campioni possono causare errori di volume insufficiente.

#### E. Preparazione del sistema

Impostare il sistema e la lista di lavoro in base alle istruzioni contenute nel *Manuale d'uso del Sistema Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)* e nella sezione *Note procedurali*.

### Note procedurali

#### A. Controlli

1. Per lavorare in modo corretto con il Software di dosaggio Aptima per il Sistema Tigris DTS, si richiedono controlli di inizio e fine. Il controllo positivo, CT / controllo negativo, GC deve trovarsi nella prima posizione e nella penultima posizione di una lista di lavoro. Questa etichetta di controllo è rosa. Il testo dell'etichetta riporta la scritta "CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC". Il controllo positivo, GC / controllo negativo, CT deve trovarsi nella seconda posizione e nell'ultima posizione di una lista di lavoro. Questa etichetta di controllo è verde-azzurra. Il testo dell'etichetta riporta la scritta "CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT".
2. Ciascuna provetta di controllo Aptima può essere analizzata una volta. I tentativi di pipettare più di una volta dalla provetta possono causare errori di volume insufficiente.

#### B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C.

#### C. Talco dei guanti

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

#### D. Protocollo del laboratorio per il monitoraggio della contaminazione per il Sistema Tigris DTS

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

Per monitorare la contaminazione del laboratorio, può essere eseguita la seguente procedura usando il Kit unisex di raccolta campioni di tampone Aptima per campioni di tamponi endocervicali e dell'uretra maschile.

1. Etichettare le provette di trasporto del tampone con i numeri corrispondenti alle aree da analizzare.
2. Rimuovere il tampone di raccolta del campione (tampone su bastoncino blu con stampa verde) dalla confezione, bagnare il tampone nel mezzo di trasporto del tampone ed eseguire un tampone dell'area designata con un movimento circolare.

3. Inserire immediatamente il tampone nella sua provetta di trasporto.
4. Spezzare con cautela il bastoncino del tampone in corrispondenza della riga incisa, facendo attenzione a evitare di schizzarne il contenuto.
5. Rimettere saldamente il cappuccio sulla provetta di trasporto del tampone.
6. Ripetere i procedimenti da 2 a 5 per ciascuna area per la quale va eseguito un tampone.

Se i risultati sono GC positivi o dubbi, vedere la sezione *Interpretazione dell'analisi – QC/Risultati relativi ai pazienti*. Per informazioni aggiuntive specifiche sul monitoraggio della contaminazione per il sistema Tigris DTS, vedere il *Manuale d'uso del Sistema Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)*.

## Sistema Panther

Di seguito sono elencati i reagenti del Dosaggio Aptima GC per il Sistema Panther. Sono indicati anche i simboli di identificazione dei reagenti, accanto al rispettivo nome del reagente.

### Reagenti e materiali in dotazione

**Nota:** per informazioni sulle indicazioni di pericolo e i consigli di prudenza che possono essere associati ai reagenti, consultare la libreria delle schede di sicurezza (Safety Data Sheet Library) all'indirizzo [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Kit per Dosaggio Aptima per Neisseria gonorrhoeae, 100 test (2 scatole e 1 kit controlli)**  
(N. cat. 302927)

#### Scatola refrigerata Dosaggio Aptima Neisseria gonorrhoeae (scatola 1) (alla ricezione, conservare a temperature da 2 °C a 8 °C)

| Simbolo      | Componente  | Quantità    |
|--------------|---|-------------|
| <b>A</b>     | <b>Reagente di amplificazione Aptima GC</b><br><i>Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di agente strutturante.</i>                 | 1 flacone   |
| <b>E</b>     | <b>Reagente enzimatico Aptima GC</b><br><i>Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente &lt; 10% di reagente strutturante.</i> | 1 flacone   |
| <b>P</b>     | <b>Reagente sonda Aptima GC</b><br><i>Sonde di DNA non infettive chemiluminescenti liofilizzate in soluzione tamponata con succinato contenente &lt; 5% di detergente.</i>        | 1 flacone   |
| <b>TCR-B</b> | <b>Reagente B Target Capture Aptima GC</b><br><i>Acidi nucleici non infettivi in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di detergente.</i>  | 1 x 0,30 mL |

#### Scatola non refrigerata Aptima Neisseria gonorrhoeae (scatola 2) (alla ricezione, conservare a temperature da 15 °C a 30 °C)

| Simbolo    | Componente   | Quantità    |
|------------|--|-------------|
| <b>AR</b>  | <b>Soluzione di ricostituzione di amplificazione Aptima GC</b><br><i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>                     | 1 x 11,9 mL |
| <b>ER</b>  | <b>Soluzione di ricostituzione enzimatica Aptima GC</b><br><i>Soluzione tamponata HEPES contenente un surfattante e glicerolo.</i>     | 1 x 6,3 mL  |
| <b>PR</b>  | <b>Soluzione di ricostituzione della sonda Aptima GC</b><br><i>Soluzione tamponata con succinato contenente &lt; 5% di detergente.</i> | 1 x 15,2 mL |
| <b>S</b>   | <b>Reagente di selezione (Selection) Aptima GC</b><br><i>600 mM di soluzione tamponata con borato contenente surfattante.</i>          | 1 x 43,0 mL |
| <b>TCR</b> | <b>Reagente Target Capture Aptima GC</b><br><i>Soluzione salina tamponata contenente fase solida e oligomeri di cattura.</i>           | 1 x 26,0 mL |
|            | <b>Collari di ricostituzione</b>   | 3           |
|            | <b>Scheda dei codici a barre del Lotto mastro</b>  | 1 scheda    |



**Kit controlli Aptima (Aptima Controls Kit)**  
(alla ricezione, conservare a temperature da 2 °C a 8 °C)

| Simbolo             | Componente  | Quantità   |
|---------------------|---|------------|
| <b>PGC/<br/>NCT</b> | <b>Controllo positivo, GC / Controllo negativo, CT Aptima</b><br><i>Acido nucleico di GC non infettivo in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di detergente. Ciascun campione di 400 µL contiene l'equivalente stimato di rRNA di 50 cellule di GC (250 fg/dosaggio*).</i> | 5 x 1,7 mL |
| <b>PCT/<br/>NGC</b> | <b>Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC Aptima</b><br><i>Acido nucleico di CT non infettivo in soluzione tamponata contenente &lt; 5% di detergente. Ogni campione di 400 µL contiene l'equivalente stimato di rRNA pari a 1 IFU CT (5 fg/dosaggio*).</i>          | 5 x 1,7 mL |

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

### Materiali richiesti ma disponibili separatamente

**Nota:** Per i materiali disponibili presso Hologic sono indicati i numeri di catalogo, se non diversamente specificato.

|   | <u>N. cat.</u>      |
|---|---------------------|
| Sistema Panther   | 303095              |
| Kit fluidi per dosaggio Aptima (Aptima Assay Fluids Kit)<br><i>(soluzione di lavaggio Aptima, tampone per fluido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima)</i> | 303014 (1.000 test) |
| Kit Aptima Auto Detect  | 303013 (1.000 test) |
| Unità multiprovetta (Multi-tube units, MTU)   | 104772-02           |
| Kit della sacca degli scarti Panther (Panther Waste Bag Kit)  | 902731              |
| Coperchio del contenitore degli scarti Panther (Panther Waste Bin Cover)  | 504405              |
| Oppure Kit di seduta Panther (Panther Run Kit)<br><i>contiene MTU, contenitori degli scarti e relativi coperchi, fluidi per dosaggio e Auto Detect</i>                  | 303096 (5.000 test) |
| Puntali da 1.000 µL, conduttivi, rilevatori di liquido (Tips, 1.000 µL conductive, liquid sensing)  | 10612513 (Tecan)    |
| Kit di trasferimento dei campioni Aptima (Aptima Specimen Transfer Kit)<br><i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>  | 301154C             |
| Kit di trasferimento dei campioni Aptima (Aptima Specimen Transfer Kit)—Stampabile<br><i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>                             | PRD-05110           |
| Kit di raccolta campioni di tampone multitest Aptima  | PRD-03546           |
| Kit unisex di raccolta campioni di tampone Aptima per campioni di tampone endocervicale e dell'uretra maschile  | 301041              |

|   |                              |
|---|------------------------------|
| Kit di raccolta del campione di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili (Aptima Urine Specimen Collection Kit for Male and Female Urine Specimens)        | 301040                       |
| Provette di trasporto del campione di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili (Aptima Urine Specimen Transport Tubes for Male and Female Urine Specimens) | 105575                       |
| Candeggina (Bleach), soluzione di ipoclorito di sodio in concentrazione da 5% a 7% (da 0,7 M a 1,0 M)   | —                            |
| Guanti monouso  | —                            |
| Standard di calibrazione SysCheck (SysCheck calibration standard)   | 301078                       |
| Cappucci penetrabili Aptima (Aptima penetrable caps)  | 105668                       |
| Cappucci non penetrabili sostitutivi (Replacement non-penetrable caps)  | 103036A                      |
| Tappi sostitutivi (Replacement caps) per kit da 100 test  | —                            |
| <i>Soluzioni di ricostituzione dei reagenti sonda, enzimatici e di amplificazione</i>   | <i>CL0041 (100 cappucci)</i> |
| <i>Reagente di selezione (Selection) e TCR</i>  | <i>501604 (100 cappucci)</i> |

## Materiali opzionali

|   | <u>N. cat.</u> |
|---|----------------|
| Kit controlli Aptima (Aptima Controls Kit)  | 301110         |
| Potenziatore di candeggina (Bleach Enhancer) Hologic<br><i>per la pulizia ordinaria di superfici e attrezzature</i> | 302101         |

## Procedura di analisi con il Sistema Panther

**Nota:** Per ulteriori informazioni procedurali sul Sistema Panther, consultare il relativo Manuale d'uso (Panther System Operator's Manual).

### A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro destinate alla preparazione di reagenti e campioni. Pulire le superfici di lavoro con un panno imbevuto di soluzione di ipoclorito di sodio a concentrazioni comprese fra 2,5% e 3,5% (da 0,35 M a 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati i reagenti e i campioni con coperture da banco di laboratorio pulite, assorbenti e con parte posteriore plastificata.

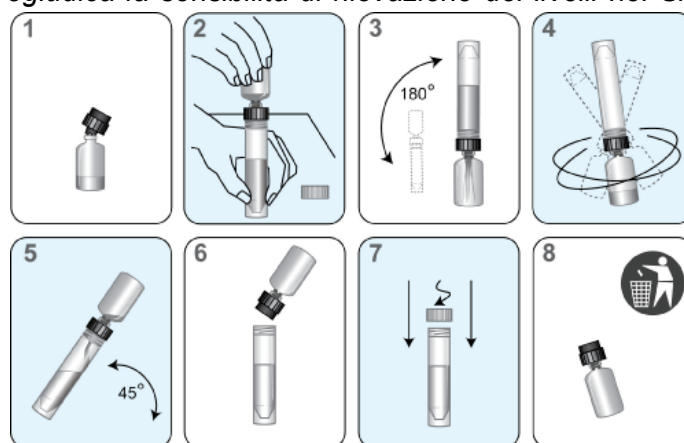
### B. Ricostituzione dei reagenti/Preparazione di un nuovo kit

**Nota:** La ricostituzione dei reagenti andrebbe eseguita prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Sistema Panther.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione GC, enzimatico GC e sonda GC, unire le bottiglie di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se sono refrigerate, lasciare che le soluzioni ricostituite raggiungano la temperatura ambiente prima di usarle.

- a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al proprio reagente liofilizzato. Prima di fissare il collare di ricostituzione, assicurarsi che la soluzione di ricostituzione e il reagente presentino etichette di colore uguale.
- b. Controllare i numeri di lotto sulla scheda dei codici a barre del lotto di riferimento per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.
- c. Aprire il flacone del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 3, Procedimento 1).
- d. Aprire il flacone della soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il cappuccio su una superficie di lavoro pulita e coperta.
- e. Tenendo la bottiglia della soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura della bottiglia (Figura 3, Procedimento 2).
- f. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati. Lasciare scendere la soluzione dalla bottiglia nel flacone di vetro (Figura 3, Procedimento 3).
- g. Agitare ruotando delicatamente la soluzione nel flacone per miscelarla. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 3, Procedimento 4).
- h. Attendere che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere di nuovo i due flaconi assemblati, inclinandoli con un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 3, Procedimento 5). Lasciar ridiscendere tutto il liquido nel flacone di plastica.
- i. Rimuovere il collare di ricostituzione e il flacone di vetro (Figura 3, Procedimento 6).
- j. Rimettere il cappuccio sulla bottiglia di plastica. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 3, Procedimento 7).
- k. Smaltire il collare e il flacone (Figura 3, Procedimento 8).

**Avvertenza:** Evitare che si formi schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevazione dei livelli nel Sistema Panther.



**Figura 3. Processo di ricostituzione con il Sistema Panther**

2. Preparazione del reagente Target Capture di lavoro GC (wTCR GC).
  - a. Accoppiare i flaconi appropriati di TCR GC e TCR-B.
  - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sulla scheda dei codici a barre del lotto di riferimento per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.

- c. Aprire il flacone di TCR GC e disporre il cappuccio su una superficie di lavoro pulita e coperta.
  - d. Aprire il flacone di TCR-B e versarne l'intero contenuto nel flacone di TCR GC. È normale che nel flacone di TCR-B resti una piccola quantità di liquido.
  - e. Incappucciare il flacone di TCR GC e agitare la soluzione ruotandola delicatamente per miscelare il contenuto. Evitare di creare schiuma durante questo procedimento.
  - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
  - g. Smaltire il flacone e il cappuccio del TCR-B.
3. Preparazione del reagente Selection.
- a. Controllare il numero di lotto sul flacone di reagente per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sul foglio dei codici a barre dei lotti master.
  - b. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

**Nota:** *Miscelare accuratamente i reagenti di amplificazione GC, enzimatico GC, sonda GC e di selezione (Selection) GC capovolgendoli delicatamente prima di caricarli nel sistema. Evitare di creare schiuma mentre si capovolgono i reagenti.*

C. Preparazione dei reagenti (per reagenti precedentemente ricostituiti)

1. I reagenti sonda, di amplificazione ed enzimatico precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C) prima di iniziare il dosaggio.
2. Se il reagente sonda GC ricostituito contiene precipitato che non rientra in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare il flacone chiuso con il cappuccio ad una temperatura che non superi i 62 °C per un periodo compreso fra 1 e 2 minuti. Dopo questo procedimento di riscaldamento, il reagente sonda GC può essere usato anche se resta del precipitato residuo. Prima di caricarlo sul sistema, miscelare il reagente sonda GC capovolgendolo, facendo attenzione a non produrre schiuma.
3. Miscelare a fondo ciascun reagente capovolgendo delicatamente il flacone prima di caricarlo nel sistema. Evitare di creare schiuma mentre si capovolgono i reagenti.
4. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Sistema Panther riconosce e rifiuta i flaconi riempiti fino all'orlo.

D. Manipolazione dei campioni

1. Prima dell'analisi, lasciare che i controlli e i campioni raggiungano la temperatura ambiente.
2. **Non mettere i campioni nel vortex.**
3. Controllare visivamente che tutte le provette dei campioni soddisfino almeno uno dei seguenti criteri:
  - a. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima blu in una provetta di trasporto dei tamponi campione unisex.
  - b. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima rosa in una provetta di trasporto dei campioni di tampone vaginali o multitest.
  - c. Un volume finale di urina compreso tra le linee nere di riempimento di una provetta di trasporto dei campioni di urina.
  - d. L'assenza di un tampone nella provetta di trasporto dei campioni Aptima per i campioni di Pap liquidi in soluzione PreservCyt.

4. Ispezionare le provette dei campioni prima di caricarle sulla rastrelliera.
  - a. Se una provetta di un campione contiene bollicine nello spazio fra il liquido e il cappuccio, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per eliminare le bollicine.
  - b. Se una provetta di un campione presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato quando sono state seguite le istruzioni per la raccolta, centrifugare la provetta per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non sia presente liquido nel cappuccio.
  - c. Se il livello del liquido in una provetta di un campione di urina non rientra fra le due righe indicatrici nere dell'etichetta, il campione deve essere rifiutato. Non forare una provetta troppo piena.
  - d. Se una provetta di un campione di urina contiene precipitato, riscaldare il campione a 37 °C per un massimo di 5 minuti. Nel caso in cui il precipitato non rientri in soluzione, assicurarsi che il precipitato non impedisca l'erogazione del campione.

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

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

#### E. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni contenute nel *Manuale d'uso del Sistema Panther (Panther System Operator's Manual)* e nella sezione *Note procedurali*. Accertarsi che vengano utilizzate rastrelliere per reagenti e adattatori per TCR di dimensioni appropriate.
2. Caricare i campioni.

## Note procedurali

### A. Controlli

1. Per lavorare in modo adeguato con il Software di dosaggio Aptima per il Sistema Panther, si richiedono alcuni controlli. Le provette del controllo positivo, CT / controllo negativo, GC e del controllo positivo, GC / controllo negativo, CT possono essere caricate in qualsiasi posizione della rastrelliera o in qualsiasi vano di alloggiamento dei campioni del Sistema Panther. La pipettazione dei campioni del paziente inizierà dopo che sarà stata soddisfatta una delle seguenti due condizioni:
  - a. Alcuni controlli sono in fase di elaborazione da parte del sistema.
  - b. I risultati validi dei controlli sono stati registrati nel sistema.
2. Dopo che le provette dei controlli saranno state pipettate e sottoposte a trattamento per uno specifico kit di reagenti, i campioni del paziente potranno essere trattati con il kit di reagenti associato entro un intervallo massimo di 24 ore **a meno che**:
  - a. I controlli non siano validi.
  - b. Il kit di reagenti del dosaggio associato sia stato rimosso dal sistema.
  - c. Il kit di reagenti del dosaggio associato abbia superato i limiti di stabilità.
3. Ciascuna provetta di controllo Aptima può essere analizzata una volta. I tentativi di pipettare più di una volta dalla provetta possono causare errori di volume insufficiente.

**B. Temperatura**

Per temperatura ambiente si intende una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C.

**C. Talco dei guanti**

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

**D. Protocollo del laboratorio per il monitoraggio della contaminazione per il Sistema Panther**

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

Per monitorare la contaminazione del laboratorio, può essere eseguita la seguente procedura usando il Kit unisex di raccolta campioni di tampone Aptima per campioni di tamponi endocervicali e dell'uretra maschile.

1. Etichettare le provette di trasporto del tampone con i numeri corrispondenti alle aree da analizzare.
2. Rimuovere il tampone di raccolta del campione (tampone su bastoncino blu con stampa verde) dalla confezione, bagnare il tampone nel mezzo di trasporto del tampone ed eseguire un tampone dell'area designata con un movimento circolare.
3. Inserire immediatamente il tampone nella sua provetta di trasporto.
4. Spezzare con cautela il bastoncino del tampone in corrispondenza della riga incisa, facendo attenzione a evitare di schizzarne il contenuto.
5. Rimettere saldamente il cappuccio sulla provetta di trasporto del tampone.
6. Ripetere i procedimenti da 2 a 5 per ciascuna area per la quale va eseguito un tampone.

Se i risultati sono GC positivi o dubbi, vedere *Interpretazione dell'analisi – QC/Risultati relativi ai pazienti*. Per ulteriori informazioni sul monitoraggio della contaminazione specifiche per il Sistema Panther, contattare il servizio di assistenza tecnica Hologic.

## Interpretazione dell'analisi – QC/Risultati relativi ai pazienti

### A. Interpretazione dell'analisi

I risultati dell'analisi di dosaggio vengono interpretati automaticamente dal software di dosaggio Aptima usando il protocollo GC. Un risultato dell'analisi può essere negativo, dubbio, positivo o non valido, secondo quanto determinato in base alle RLU totali ricavate nel procedimento di rilevamento (vedere sotto). Un risultato dell'analisi può essere non valido a causa di valori RLU che non rientrano negli intervalli normali attesi. Risultati iniziali dell'analisi dubbi e non validi vanno ripetuti.

| <b>Interpretazione dell'analisi</b>     | <b>RLU totali (x1.000)</b> |
|---|----------------------------|
| Negativo                                | Da 0* a < 50               |
| Dubbio                                  | Da 50 a < 100              |
| Positivo con RLU basse <sup>1,2,3</sup> | Da 100 a < 2.000           |
| Positivo <sup>1,2</sup>                 | Da 2.000 a < 12.000        |
| Non valido                              | 0* oppure > 12.000         |

\* La presenza di un risultato con RLU pari a zero (0 x 1.000) nel referto della seduta indica un valore tra zero e 999 RLU. Valori di RLU inferiori a 160 sui Sistemi DTS o a 690 sul Sistema Tigris DTS o sul Sistema Panther verranno refertati come non validi.

<sup>1</sup> Secondo le Linee guida dei CDC, "si dovrebbe prendere in considerazione la possibilità di eseguire ulteriori analisi per le persone con test di screening positivo per CT o GC quando le informazioni relative ai fattori di rischio o i sondaggi effettivi segnalano una scarsa prevalenza con conseguente PPV più basso (es. < 90%)". Per informazioni dettagliate su ulteriori analisi e sulla gestione dei pazienti dopo un test di screening positivo, vedere le Linee guida dei CDC (1).

<sup>2</sup> Per la distribuzione dei risultati relativi alle RLU vedere la Tabella 3. Il valore delle RLU non è indicativo del livello degli organismi nel campione.

<sup>3</sup> Nell'intervallo positivo inferiore, i dati suggeriscono che i risultati positivi devono essere interpretati con cautela, tenendo presente che la possibilità di falsi positivi può essere più elevata rispetto ai veri positivi.

### B. Risultati di controllo della qualità e accettabilità

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

Controlli positivi devono produrre i seguenti risultati dell'analisi:

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

\* La presenza di un risultato con RLU pari a zero (0 x 1.000) nel referto della seduta indica un valore tra zero e 999 RLU. Valori di RLU inferiori a 160 sui Sistemi DTS o a 690 sul Sistema Tigris DTS o sul Sistema Panther verranno refertati come non validi.

1. Il Software di dosaggio Aptima valuta automaticamente i controlli rispetto ai criteri indicati sopra e referta il Run Status (Stato seduta) come PASS (superata) se i criteri di controllo della seduta sono soddisfatti, e come FAIL (fallita) se i criteri di controllo della seduta non vengono soddisfatti.
2. Se il Run Status (Stato seduta) è FAIL (fallita), tutti i risultati dell'analisi nella stessa seduta sono non validi e non vanno refertati.
3. Ciascun laboratorio deve implementare le appropriate procedure di controllo per soddisfare i requisiti dei regolamenti CLIA (sezione 493.1256).

**Nota:** Vedere *Individuazione e risoluzione dei problemi o contattare l'Assistenza Tecnica Hologic per ottenere assistenza per controlli fuori intervallo sui sistemi DTS.*

4. Un parametro del Sistema Tigris DTS permette a ciascun centro di specificare una frequenza di uso di gruppo con controlli, mediante il quale delle ulteriori serie di controlli possono essere disposte a intervalli definiti all'interno della lista di lavoro. Se questo parametro viene specificato, il Sistema Tigris DTS richiede che una serie di controlli sia disposta dopo il numero definito di campioni nel gruppo con controlli. Il Sistema Tigris DTS valuta automaticamente ciascun controllo nella lista di lavoro in base ai criteri di cui sopra, e invalida tutti i campioni nei gruppi con controlli interessati se i criteri di controllo non vengono soddisfatti. Vedere il *Manuale d'uso del Sistema Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)* per ulteriori dettagli.
5. I controlli negativi potrebbero non essere efficaci nel monitoraggio di carryover casuale. Vedere *Prestazioni analitiche del Sistema Tigris DTS* per i risultati di uno studio sul carryover analitico ad alto target svolto per dimostrare il controllo del carryover sul Sistema Tigris DTS. Vedere *Prestazioni analitiche del Sistema Panther* per i risultati di uno studio sul carryover analitico ad alto target svolto per dimostrare il controllo del carryover sul Sistema Panther.

#### C. Controllo della preparazione dei campioni (opzionale)

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



## D. Risultati dell'analisi dei pazienti

1. Se i controlli in qualsiasi seduta non danno i risultati attesi, i risultati dell'analisi sui campioni dei pazienti nella stessa seduta non vanno refertati.
2. Risultati di campioni di tamponi, urina e Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt. Vedere le *Note* sottostanti.
  - a. Risultati iniziali

|            |                                |
|------------|--------------------------------|
| GC Pos*    | Positivo per GC rRNA.          |
| GC Neg     | Presunto negativo per GC rRNA. |
| GC Dubbio  | Il campione va rianalizzato.   |
| Non valido | Il campione va rianalizzato.   |

## b. Risultati della ripetizione dell'analisi

|            |   |
|------------|---|
| GC Pos*    | Positivo per GC rRNA.                         |
| GC Neg     | Presunto negativo per GC rRNA.                |
| GC Dubbio  | Indeterminato; va raccolto un nuovo campione. |
| Non valido | Indeterminato; va raccolto un nuovo campione. |

\*In questa categoria rientrano i risultati dei campioni positivi con RLU basse. Vedere la sezione precedente *Interpretazione dell'analisi – QC/Risultati relativi ai pazienti*.

*Note*

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

## Limitazioni

- A. L'uso di questo dosaggio va limitato al personale che è stato addestrato nella relativa procedura. La mancata aderenza alle istruzioni delineate in questo inserto informativo può determinare risultati erranei.
- B. Gli effetti dell'uso di tamponi, di pulizia dell'area vaginale e di variabili nella raccolta dei campioni non sono stati valutati per il loro impatto sul rilevamento di GC.
- C. La presenza di muco nei campioni endocervicali non interferisce con il rilevamento di GC da parte del Dosaggio Aptima GC. Tuttavia, per garantire un adeguato campionamento endocervicale, si consiglia di rimuovere il muco in eccesso.
- D. La raccolta di campioni di urina, di tampone vaginale e Pap liquidi in soluzione PreservCyt non è concepita per sostituire gli esami cervicali e i campioni endocervicali per la diagnosi di infezioni dell'apparato urogenitale femminile. Le pazienti potrebbero essere affette da cervicite, uretrite, infezioni del tratto urinario o infezioni vaginali dovute ad altre cause o a infezioni concomitanti ad altri agenti patogeni.
- E. Il Dosaggio Aptima GC non è concepito per la valutazione di sospetto abuso sessuale o per altre indicazioni di tipo medico-legale. Per le pazienti per cui un risultato falso positivo potrebbe avere un impatto psicosociale avverso, i CDC raccomandano la ripetizione dell'analisi con metodi alternativi (1).
- F. Risultati affidabili dipendono da un'appropriata raccolta dei campioni. Poiché il sistema di trasporto impiegato per questo dosaggio non permette la valutazione microscopica dell'adeguatezza dei campioni, è necessario addestrare i clinici nelle appropriate tecniche di raccolta dei campioni. Consultare l'inserto informativo dell'appropriato Kit di raccolta dei campioni Aptima.
- G. Il successo o il fallimento terapeutici non possono essere determinati con il Dosaggio Aptima GC, perché l'acido nucleico potrebbe persistere dopo la terapia antimicrobica appropriata.
- H. I risultati del Dosaggio Aptima GC vanno interpretati insieme agli altri dati di laboratorio e clinici a disposizione del medico.
- I. Un risultato negativo non preclude una possibile infezione perché i risultati dipendono da un'appropriata raccolta dei campioni. I risultati dell'analisi possono essere influenzati da un'inadeguata raccolta dei campioni, da errori tecnici, scambi di campioni o livelli target inferiori al limite di rilevamento del dosaggio.
- J. Il Dosaggio Aptima GC offre risultati qualitativi. Non può quindi essere tracciata una correlazione fra l'intensità di un segnale positivo del dosaggio e il numero di organismi in un campione.
- K. Per gli studi clinici su tamponi vaginali, tamponi endocervicali, tamponi uretrali maschili e campioni di urina, le prestazioni per il rilevamento di GC derivano da popolazioni ad alta prevalenza. I risultati positivi in popolazioni a bassa prevalenza vanno interpretati con cautela, tenendo presente che la probabilità di un falso positivo potrebbe essere più alta di quella di un vero positivo.
- L. Per lo studio clinico sui campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt, le prestazioni del Dosaggio Aptima GC per la rilevazione di GC derivano primariamente da popolazioni a bassa prevalenza. Ciononostante, risultati positivi in popolazioni a bassa

- prevalenza vanno interpretati con cautela, tenendo presente che la probabilità di un falso positivo potrebbe essere più alta di quella di un vero positivo.
- M. Le prestazioni del kit di trasferimento dei campioni Aptima non sono state valutate relativamente all'analisi dello stesso campione liquido (liquid Pap) in soluzione PreservCyt sia prima che dopo il Pap test ThinPrep.
  - N. I campioni liquidi Pap (liquid Pap) in soluzione PreservCyt trattati con strumenti diversi dal processore ThinPrep 2000 non sono stati valutati per l'uso nei dosaggi Aptima.
  - O. I campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente rappresentano un'opzione di screening per le pazienti quando non è altrimenti indicato un esame pelvico.
  - P. L'applicazione del campione di tampone vaginale raccolto dalla paziente si limita a strutture sanitarie in cui sia disponibile il supporto/la consulenza per spiegare le precauzioni e le procedure da seguire.
  - Q. Il Dosaggio Aptima GC non è stato convalidato per l'uso con campioni di tampone vaginale raccolti dalle pazienti a casa.
  - R. Le prestazioni del campione di tampone vaginale non sono state valutate in donne incinte.
  - S. Le prestazioni dei campioni endocervicali e vaginali, dei tamponi uretrali maschili, dei campioni di urina maschile e femminile e dei campioni liquidi Pap (liquid Pap) in soluzione PreservCyt non sono stati valutati negli adolescenti di età inferiore a 16 anni.
  - T. L'analisi di tamponi uretrali prelevati da maschi asintomatici non è consigliata a causa del basso valore predittivo di un risultato positivo osservato nello studio clinico.
  - U. Le prestazioni del Sistema Tigris DTS non sono state determinate ad altitudini superiori a 2.240 m (7.355 piedi). Ulteriori verifiche volumetriche e studi specifici sul dosaggio verranno eseguiti prima o durante il processo di installazione e accettazione in laboratori situati ad un'altitudine superiore ai 2.240 m (7.355 piedi).
  - V. Le prestazioni del Sistema Panther non sono state determinate ad altitudini superiori a 2.000 m (6.561 piedi).
  - W. Non ci sono prove di degradazione degli acidi nucleici nella soluzione PreservCyt. Se il campione Pap liquido (liquid Pap) in soluzione PreservCyt presenta piccoli numeri di materiale cellulare di GC, potrebbe verificarsi una distribuzione non omogenea di questo materiale cellulare. Inoltre, quando confrontato al campionamento diretto con il Mezzo di trasporto del tampone Aptima, il volume ulteriore di Soluzione PreservCyt determina una maggiore diluizione del materiale campione. Questi fattori possono avere un impatto sulla capacità di rilevare piccoli numeri di organismi nel materiale raccolto. Se i risultati negativi derivanti dal campione non rispecchiano l'impressione clinica, potrebbe essere necessario un nuovo campione.
  - X. Ciascun cliente deve convalidare in modo indipendente un processo di trasferimento al LIS (Laboratory Information System/Sistema di informazioni del laboratorio).

**Risultati degli studi clinici**

Le caratteristiche delle prestazioni del Dosaggio Aptima GC sono state determinate in due studi clinici condotti nell'America del Nord. La prima indagine ha stabilito la sensibilità, la specificità e i valori predittivi del Dosaggio Aptima GC usando campioni di tampone endocervicale, vaginale e dell'uretra maschile raccolti da medici, campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente e campioni di urina maschile e femminile. Nel corso della prima indagine è stata anche valutata la precisione del Dosaggio Aptima GC in caso di applicazione delle Linee guida NCCLS (13). Durante la seconda indagine sono stati determinati la sensibilità, la specificità e i valori predittivi del Dosaggio Aptima GC usando il mezzo di trasporto PreservCyt (componente del Sistema ThinPrep 2000). I campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt sono stati anche analizzati in merito alla precisione del Dosaggio Aptima GC nell'ambito del laboratorio.

## Valori attesi sui sistemi DTS

### Prevalenza

La prevalenza della malattia da GC nelle popolazioni dei pazienti dipende da fattori di rischio come età, sesso, la presenza di sintomi, il tipo di clinica e il metodo di analisi. Un riepilogo della prevalenza della malattia da GC nel Nord America in base al tipo di campione, secondo quanto determinato dal Dosaggio Aptima GC, è illustrato nelle Tables 1 e 1a relative ai due studi clinici. Per una descrizione delle caratteristiche delle prestazioni sui diversi campioni clinici, vedere *Studio clinico sui campioni di tampone endocervicale, di tampone di uretra maschile, di tampone vaginale e di urina* e *Studio clinico relativo ai campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt* nella sezione *Prestazioni cliniche dei Sistemi DTS*.

Tabella 1 Prevalenza di *N. gonorrhoeae* in base al centro clinico e nel complesso, determinata dai risultati del Dosaggio Aptima GC

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

**MS** = Tampone di uretra maschile; **MU** = Urina maschile; **FS** = Tampone endocervicale femminile; **FU** = Urina femminile; **PVS** = Tampone vaginale raccolto dalla paziente; **CVS** = Tampone vaginale raccolto dal medico.

Tabella 1a Prevalenza di *N. gonorrhoeae* in base al centro clinico e nel complesso, determinata dai risultati del Dosaggio Aptima GC usando campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt

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

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

I valori di predizione positiva e negativa stimati (PPV e NPV) per i diversi tassi di prevalenza ipotetici utilizzando il Dosaggio Aptima GC sono presentati nella Tabella 2. Questi calcoli sono basati sui tassi di prevalenza ipotetici e sulla sensibilità e specificità generali desunte dallo stato di infezione dei pazienti. La sensibilità e specificità generali per GC sono risultate rispettivamente pari a 97,6% e a 99,3% (Tabella 2). I PPV e NPV effettivi per i campioni di tampone endocervicale, vaginale e di uretra maschile raccolti dal medico, di tampone vaginale raccolti dalla paziente e di urina maschile e femminile sono illustrati nella Tabella 6 per ogni centro clinico e nel complesso. I PPV e NPV effettivi per i campioni Pap liquidi in soluzione PreservCyt sono illustrati nella Tabella 6a.

Tabella 2 Valori predittivi positivi e negativi per i tassi di prevalenza ipotetici nel Nord America

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

### Distribuzione RLU per il Dosaggio Aptima GC

La Figura 4 illustra la distribuzione delle RLU per il Dosaggio Aptima GC per i seguenti tipi di campioni analizzati nello studio clinico: per i pazienti sintomatici, campioni di tampone endocervicale, vaginale e dell'uretra maschile raccolti dai medici e campioni di urina maschile e femminile raccolti dai pazienti; per i pazienti asintomatici, campioni di tampone endocervicale e vaginale raccolti dai medici e campioni di tampone vaginale e di urina maschile e femminile raccolti dai pazienti. La Tabella 3 riepiloga la distribuzione delle RLU per i risultati positivi e negativi nel complesso, unitamente ai risultati falsi positivi e falsi negativi per i tipi di campioni in questione in relazione allo stato di infezione dei pazienti. Per quanto concerne determinati tipi di campioni, si registra una tendenza verso proporzioni crescenti di veri risultati positivi parallelamente all'aumento dei valori delle RLU.

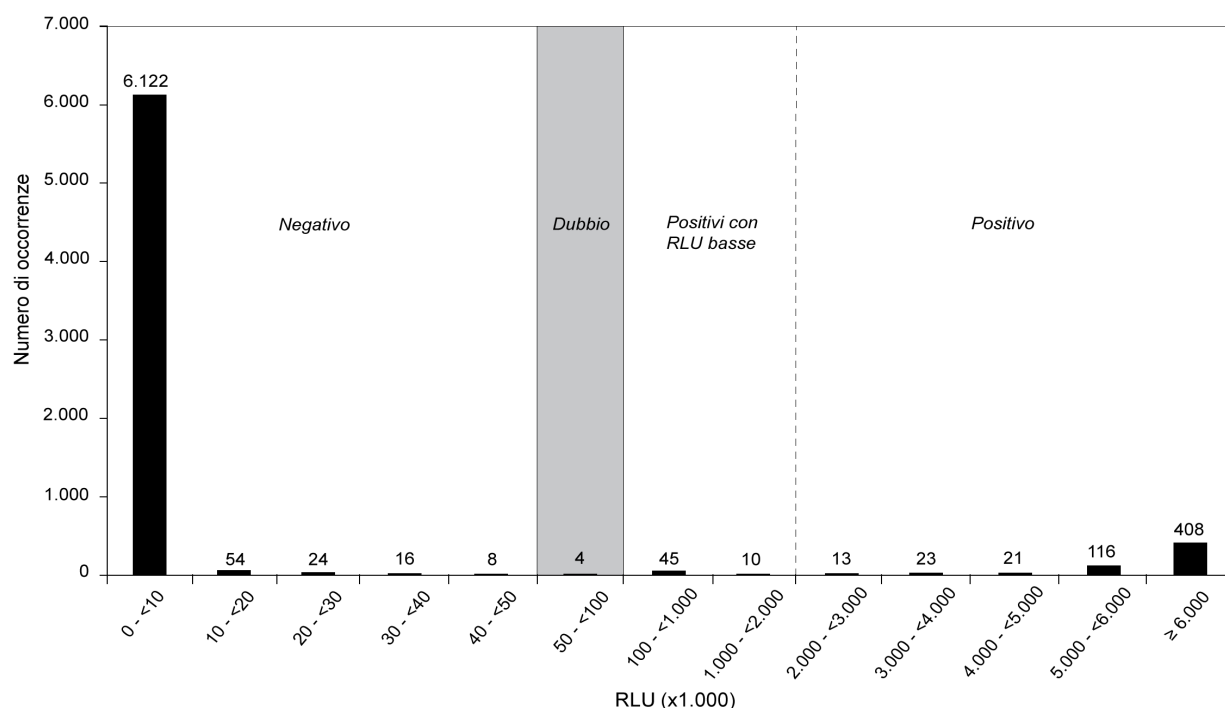


Figura 4. Frequenza di distribuzione delle RLU per il Dosaggio Aptima GC

Tabella 3 Distribuzione RLU per il Dosaggio Aptima GC

|                              | RLU (x1.000) |          |          |          |          |           |              |                |                |                |                |                |         |
|------------------------------|--------------|----------|----------|----------|----------|-----------|--------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------|
|                              | 0 - <10      | 10 - <20 | 20 - <30 | 30 - <40 | 40 - <50 | 50 - <100 | 100 - <1.000 | 1.000 - <2.000 | 2.000 - <3.000 | 3.000 - <4.000 | 4.000 - <5.000 | 5.000 - <6.000 | ≥ 6.000 |
| <b>Totale positivi</b>       |              |          |          |          |          | -         | 45           | 10             | 13             | 23             | 21             | 116            | 408     |
| <b>Totale falsi positivi</b> |              |          |          |          |          | -         | 35           | 6              | 2              | 4              | 0              | 3              | 0       |
| <b>CVS</b>                   |              |          |          |          |          | 1         | 5            | 3              | 0              | 1              | 0              | 2              | 0       |
| <b>PVS</b>                   |              |          |          |          |          | 0         | 2            | 0              | 0              | 1              | 0              | 1              | 0       |
| <b>FS</b>                    |              |          |          |          |          | 2         | 12           | 1              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0       |
| <b>MS</b>                    |              |          |          |          |          | 1         | 9            | 0              | 1              | 0              | 0              | 0              | 0       |
| <b>FU</b>                    |              |          |          |          |          | 0         | 2            | 0              | 0              | 1              | 0              | 0              | 0       |
| <b>MU</b>                    |              |          |          |          |          | 0         | 5            | 2              | 1              | 1              | 0              | 0              | 0       |
| <b>Totale negativi</b>       | 6.122        | 54       | 24       | 16       | 8        | -         |              |                |                |                |                |                |         |
| <b>Totale falsi negativi</b> | 7            | 2        | 1        | 2        | 1        | -         |              |                |                |                |                |                |         |
| <b>CVS</b>                   | 2            | 0        | 0        | 0        | 0        | -         |              |                |                |                |                |                |         |
| <b>PVS</b>                   | 0            | 0        | 0        | 0        | 0        | -         |              |                |                |                |                |                |         |
| <b>FS</b>                    | 0            | 0        | 0        | 1        | 1        | -         |              |                |                |                |                |                |         |
| <b>MS</b>                    | 0            | 1        | 0        | 0        | 0        | -         |              |                |                |                |                |                |         |
| <b>FU</b>                    | 3            | 1        | 1        | 1        | 0        | -         |              |                |                |                |                |                |         |
| <b>MU</b>                    | 2            | 0        | 0        | 0        | 0        | -         |              |                |                |                |                |                |         |

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

La colonna grigia denota una zona dubbia.

## **Prestazioni cliniche dei Sistemi DTS**

*Vedere Concordanza dei campioni clinici sul Sistema Tigris DTS dopo la sezione Prestazioni analitiche dei Sistemi DTS per le prestazioni cliniche specifiche del Sistema Tigris DTS.*

### **Studio clinico sui campioni di tampone endocervicale, di tampone di uretra maschile, di tampone vaginale e di urina**

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

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

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

Per calcolare la sensibilità e la specificità sono stati usati in totale 7.653 risultati del Dosaggio Aptima GC. La sensibilità e la specificità per CT in base a sesso, tipo di campione e stato sintomatico sono illustrate nella Tabella 4. La Tabella 6 mostra i valori di sensibilità, specificità e predittivi del Dosaggio Aptima GC confrontati con lo stato di infezione del



paziente per ciascun centro clinico e nel complesso. Le Tabella 7a - 7e riepilogano il numero di risultati derivanti da soggetti sintomatici e asintomatici designati come infetti o non infetti da GC in base all'algoritmo dello stato di infezione del paziente.

Tra i 2.787 soggetti iscritti, c'erano 15 pazienti con stato di infezione GC non noto.

Le pazienti sono state designate con uno stato di infezione della paziente non noto se mancavano risultati che impedivano la determinazione conclusiva dello stato di infezione.

I risultati relativi a questi pazienti non sono stati inclusi in nessun calcolo sulle prestazioni.

Tra i 7.704 risultati del Dosaggio Aptima GC, 22 campioni (0,29%) hanno inizialmente prodotto risultati non validi o dubbi. Alla ripetizione dell'analisi, 4 campioni sono rimasti dubbi e sono stati esclusi dai calcoli. I rimanenti 18 campioni hanno prodotto risultati validi durante la ripetizione dell'analisi e sono stati inclusi nei calcoli delle prestazioni cliniche.

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

| Campione                | Stato sintomatico | N            | TP    | FP  | TN              | FN    | Sensibilità (I.C. del 95%) |      | Specificità (I.C. del 95%) |      |               |
|-------------------------|-------------------|--------------|-------|-----|-----------------|-------|----------------------------|------|----------------------------|------|---------------|
| Maschile                | Tampone           | Sintomatico  | 575   | 171 | 10 <sup>a</sup> | 393   | 1                          | 99,4 | (96,8 - 100)               | 97,5 | (95,5 - 98,8) |
|                         | Urina             | Sintomatico  | 576   | 171 | 4 <sup>b</sup>  | 400   | 1                          | 99,4 | (96,8 - 100)               | 99,0 | (97,5 - 99,7) |
|                         |                   | Asintomatico | 745   | 9   | 5 <sup>c</sup>  | 730   | 1                          | 90,0 | (55,5 - 99,7)              | 99,3 | (98,4 - 99,8) |
|                         |                   | Tutti        | 1.321 | 180 | 9 <sup>d</sup>  | 1.130 | 2                          | 98,9 | (96,1 - 99,9)              | 99,2 | (98,5 - 99,6) |
| Femminile               | Tampone           | Sintomatico  | 805   | 52  | 8 <sup>e</sup>  | 744   | 1                          | 98,1 | (89,9 - 100)               | 98,9 | (97,9 - 99,5) |
|                         |                   | Asintomatico | 635   | 20  | 5 <sup>f</sup>  | 609   | 1                          | 95,2 | (76,2 - 99,9)              | 99,2 | (98,1 - 99,7) |
|                         |                   | Tutti        | 1.440 | 72  | 13 <sup>g</sup> | 1.353 | 2                          | 97,3 | (90,6 - 99,7)              | 99,0 | (98,4 - 99,5) |
|                         | Urina             | Sintomatico  | 810   | 48  | 2 <sup>h</sup>  | 755   | 5                          | 90,6 | (79,3 - 96,9)              | 99,7 | (99,0 - 100)  |
|                         |                   | Asintomatico | 639   | 21  | 1 <sup>i</sup>  | 616   | 1                          | 95,5 | (77,2 - 99,9)              | 99,8 | (99,1 - 100)  |
|                         |                   | Tutti        | 1.449 | 69  | 3 <sup>j</sup>  | 1.371 | 6                          | 92,0 | (83,4 - 97,0)              | 99,8 | (99,4 - 100)  |
| Raccolto dalla paziente | Tampone vaginale  | Asintomatico | 629   | 21  | 4 <sup>k</sup>  | 604   | 0                          | 100  | (83,9 - 100)               | 99,3 | (98,3 - 99,8) |
| Raccolto dal medico     | Tampone vaginale  | Sintomatico  | 809   | 52  | 7 <sup>m</sup>  | 749   | 1                          | 98,1 | (89,9 - 100)               | 99,1 | (98,1 - 99,6) |
|                         |                   | Asintomatico | 637   | 21  | 4 <sup>n</sup>  | 611   | 1                          | 95,5 | (77,2 - 99,9)              | 99,3 | (98,3 - 99,8) |
|                         |                   | Tutti        | 1.446 | 73  | 11 <sup>o</sup> | 1.360 | 2                          | 97,3 | (90,7 - 99,7)              | 99,2 | (98,6 - 99,6) |

TP = Vero positivo; FP = Falso positivo; TN = Vero negativo; FN = Falso negativo

Risultati GC del Dosaggio Aptima Combo 2: N. di risultati positivi / N. di campioni analizzati: a: 2/10 b: 1/4 c: 1/5 d: 2/9 e: 5/8 f: 2/5 g: 7/13 h: 1/2 i: 1/1 j: 2/3 k: 3/4 l: 8/11 m: 6/7 n: 3/4 o: 9/11.

## Studio clinico relativo ai campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt

Uno studio clinico prospettivo multicentrico è stato condotto per valutare l'uso della soluzione PreservCyt (un componente del Sistema ThinPrep 2000) come mezzo alternativo per i campioni ginecologici per il rilevamento di *N. gonorrhoeae* da parte del Dosaggio Aptima GC. Milleseicentoquarantasette (1.647) pazienti sintomatiche e asintomatiche, frequentatrici di cliniche ginecologiche, per il controllo delle nascite, per la salute pubblica, per donne e per malattie a trasmissione sessuale sono state valutate nello studio clinico. Tra queste, 1.288 erano pazienti asintomatiche e 359 pazienti sintomatiche (Tabella 7e). Le pazienti erano state iscritte da centri con prevalenze di GC comprese tra 0,0% e 5,0% (Tabella 6a).

Da ogni paziente idonea sono stati raccolti due campioni: un campione Pap liquido (liquid Pap) in soluzione PreservCyt e un campione di tampone endocervicale. I campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt sono stati raccolti usando il dispositivo di raccolta a forma di scopa o con combinazione spazzola/spatola endocervicale. La Tabella 5 illustra la distribuzione dei dispositivi di campionamento cervicale secondo il centro di raccolta dei campioni e nel complesso.

I campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt sono stati trattati secondo le istruzioni contenute nel *Manuale d'uso del processore ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* e nell'inserito informativo del Kit di trasferimento dei campioni Aptima. Dopo aver trattato il campione Pap liquido (liquid Pap) con il Processore ThinPrep 2000, il campione è stato trasferito nel Kit di trasferimento dei campioni Aptima per l'analisi con il Dosaggio Aptima GC.

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

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

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

Tabella 5 Distribuzione dei dispositivi di campionamento cervicale usati per i campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt

| Dispositivo di campionamento cervicale usato | Centro clinico di raccolta |     |     |     |     |     | Totale |
|--|----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|--------|
|  | 1                          | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |        |
| Spatola/spazzola                             | 0                          | 124 | 475 | 287 | 57  | 364 | 1.307  |
| Dispositivo a forma di scopa                 | 100                        | 0   | 0   | 0   | 240 | 0   | 340    |

Tabella 5a Sensibilità e specificità del Dosaggio Aptima GC con i campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt rispetto allo stato di infezione pazienti per stato sintomatico e nel complesso

| Sintomo      | Risultato soluzione PreservCyt con Aptima GC | +/+ | +/- | -/+            | -/-   | Sensibilità (%)<br>(I.C. del 95%) | Specificità (%)<br>(I.C. del 95%)   |
|--------------|--|-----|-----|----------------|-------|-----------------------------------|-------------------------------------|
|              |  |     |     |                |       |                                   |                                     |
| Sintomatico  | Positivo                                     | 7   | 0   | 0              | 2     | 100 (7/7)<br>(59,0 - 100)         | 99,4 (350/352)<br>(98,0 - 99,9)     |
|              | Negativo                                     | 0   | 0   | 0              | 350   |                                   |                                     |
|              | Totale                                       | 7   | 0   | 0              | 352   |                                   |                                     |
| Asintomatico | Positivo                                     | 5   | 0   | 1 <sup>1</sup> | 1     | 83,3 (5/6)<br>(35,9 - 99,6)       | 99,8 (1.280/1.282)<br>(99,4 - 100)  |
|              | Negativo                                     | 1   | 0   | 5              | 1.275 |                                   |                                     |
|              | Totale                                       | 6   | 0   | 6              | 1.276 |                                   |                                     |
| Tutti        | Positivo                                     | 12  | 0   | 1              | 3     | 92,3 (12/13)<br>(64,0 - 99,8)     | 99,8 (1.630/1.634)<br>(99,4 - 99,9) |
|              | Negativo                                     | 1   | 0   | 5              | 1.625 |                                   |                                     |
|              | Totale                                       | 13  | 0   | 6              | 1.628 |                                   |                                     |

+/+ = Risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima Combo 2/Risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima GC.

+/- = Risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima Combo 2/Risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima GC.

-/+ = Risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima Combo 2/Risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima GC.

-/- = Risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima Combo 2/Risultato negativo del campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima GC.

<sup>1</sup>Un campione ha avuto un risultato contraddittorio: risultato dubbio del campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima Combo 2/risultato positivo del campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima GC.

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

| Campione | Centro | N     | TP  | FP  | TN    | FN  | Prev (%) | Sensibilità (I.C. del 95%) | Specificità (I.C. del 95%) | PPV (%) | NPV (%) |
|----------|--------|-------|-----|-----|-------|-----|----------|----------------------------|----------------------------|---------|---------|
| Tampone  | 1      | 145   | 49  | 0   | 96    | 0   | 33,8     | 100 (92,7 - 100)           | 100 (96,2 - 100)           | 100     | 100     |
|          | 2      | 177   | 66  | 8   | 102   | 1   | 37,9     | 98,5 (92,0 - 100)          | 92,7 (86,2 - 96,8)         | 89,2    | 99,0    |
|          | 3      | N/P   | N/P | N/P | N/P   | N/P | N/P      | N/P                        | N/P                        | N/P     | N/P     |
|          | 4      | N/P   | N/P | N/P | N/P   | N/P | N/P      | N/P                        | N/P                        | N/P     | N/P     |
|          | 5      | 49    | 7   | 1   | 41    | 0   | 14,3     | 100 (59,0 - 100)           | 97,6 (87,4 - 99,9)         | 87,5    | 100     |
|          | 6      | 150   | 37  | 1   | 112   | 0   | 24,7     | 100 (90,5 - 100)           | 99,1 (95,2 - 100)          | 97,4    | 100     |
|          | 7      | 54    | 12  | 0   | 42    | 0   | 22,2     | 100 (73,5 - 100)           | 100 (91,6 - 100)           | 100     | 100     |
|          | 8      | N/P   | N/P | N/P | N/P   | N/P | N/P      | N/P                        | N/P                        | N/P     | N/P     |
|          | Tutti  | 575   | 171 | 10  | 393   | 1   | 29,9     | 99,4 (96,8 - 100)          | 97,5 (95,5 - 98,8)         | 94,5    | 99,7    |
| Maschile | 1      | 252   | 53  | 1   | 198   | 0   | 21,0     | 100 (93,3 - 100)           | 99,5 (97,2 - 100)          | 98,1    | 100     |
|          | 2      | 353   | 68  | 3   | 280   | 2   | 19,8     | 97,1 (90,1 - 99,7)         | 98,9 (96,9 - 99,8)         | 95,8    | 99,3    |
|          | 3      | 4     | 0   | 0   | 4     | 0   | 0,0      | N/P                        | 100 (39,8 - 100)           | N/P     | 100     |
|          | 4      | N/P   | N/P | N/P | N/P   | N/P | N/P      | N/P                        | N/P                        | N/P     | N/P     |
|          | 5      | 200   | 8   | 3   | 189   | 0   | 4,0      | 100 (63,1 - 100)           | 98,4 (95,5 - 99,7)         | 72,7    | 100     |
|          | 6      | 305   | 39  | 2   | 264   | 0   | 12,8     | 100 (91,0 - 100)           | 99,2 (97,3 - 99,9)         | 95,1    | 100     |
|          | 7      | 207   | 12  | 0   | 195   | 0   | 5,8      | 100 (73,5 - 100)           | 100 (98,1 - 100)           | 100     | 100     |
|          | 8      | N/P   | N/P | N/P | N/P   | N/P | N/P      | N/P                        | N/P                        | N/P     | N/P     |
|          | Tutti  | 1.321 | 180 | 9   | 1.130 | 2   | 13,8     | 98,9 (96,1 - 99,9)         | 99,2 (98,5 - 99,6)         | 95,2    | 99,8    |
| Urina    | 1      | 252   | 53  | 1   | 198   | 0   | 21,0     | 100 (93,3 - 100)           | 99,5 (97,2 - 100)          | 98,1    | 100     |
|          | 2      | 353   | 68  | 3   | 280   | 2   | 19,8     | 97,1 (90,1 - 99,7)         | 98,9 (96,9 - 99,8)         | 95,8    | 99,3    |
|          | 3      | 4     | 0   | 0   | 4     | 0   | 0,0      | N/P                        | 100 (39,8 - 100)           | N/P     | 100     |
|          | 4      | N/P   | N/P | N/P | N/P   | N/P | N/P      | N/P                        | N/P                        | N/P     | N/P     |
|          | 5      | 200   | 8   | 3   | 189   | 0   | 4,0      | 100 (63,1 - 100)           | 98,4 (95,5 - 99,7)         | 72,7    | 100     |
|          | 6      | 305   | 39  | 2   | 264   | 0   | 12,8     | 100 (91,0 - 100)           | 99,2 (97,3 - 99,9)         | 95,1    | 100     |
|          | 7      | 207   | 12  | 0   | 195   | 0   | 5,8      | 100 (73,5 - 100)           | 100 (98,1 - 100)           | 100     | 100     |
|          | 8      | N/P   | N/P | N/P | N/P   | N/P | N/P      | N/P                        | N/P                        | N/P     | N/P     |
|          | Tutti  | 1.321 | 180 | 9   | 1.130 | 2   | 13,8     | 98,9 (96,1 - 99,9)         | 99,2 (98,5 - 99,6)         | 95,2    | 99,8    |

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

| Campione                |                                 | Centro | N   | TP | FP    | TN  | FN   | Prev (%) | Sensibilità (I.C. del 95%) | Specificità (I.C. del 95%) | PPV (%)       | NPV (%)       |      |     |
|-------------------------|---------------------------------|--------|-----|----|-------|-----|------|----------|----------------------------|----------------------------|---------------|---------------|------|-----|
| Tamponi                 | 1                               | 226    | 12  | 2  | 212   | 0   | 5,3  | 100      | (73,5 - 100)               | 99,1                       | (96,7 - 99,9) | 85,7          | 100  |     |
|                         | 2                               | 197    | 29  | 3  | 164   | 1   | 15,2 | 96,7     | (82,8 - 99,9)              | 98,2                       | (94,8 - 99,6) | 90,6          | 99,4 |     |
|                         | 3                               | 114    | 4   | 1  | 109   | 0   | 3,5  | 100      | (39,8 - 100)               | 99,1                       | (95,0 - 100)  | 80,0          | 100  |     |
|                         | 4                               | 260    | 5   | 1  | 254   | 0   | 1,9  | 100      | (47,8 - 100)               | 99,6                       | (97,8 - 100)  | 83,3          | 100  |     |
|                         | 5                               | 199    | 2   | 1  | 196   | 0   | 1,0  | 100      | (15,8 - 100)               | 99,5                       | (97,2 - 100)  | 66,7          | 100  |     |
|                         | 6                               | 294    | 19  | 5  | 269   | 1   | 6,8  | 95,0     | (75,1 - 99,9)              | 98,2                       | (95,8 - 99,4) | 79,2          | 99,6 |     |
|                         | 7                               | 102    | 0   | 0  | 102   | 0   | 0,0  |          | N/P                        | 100                        | (96,4 - 100)  | N/P           | 100  |     |
|                         | 8                               | 48     | 1   | 0  | 47    | 0   | 2,1  | 100      | (2,5 - 100)                | 100                        | (92,5 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | Tutti                           | 1.440  | 72  | 13 | 1.353 | 2   | 5,1  | 97,3     | (90,6 - 99,7)              | 99,0                       | (98,4 - 99,5) | 84,7          | 99,9 |     |
| Femminile               | 1                               | 227    | 11  | 2  | 213   | 1   | 5,3  | 91,7     | (61,5 - 99,8)              | 99,1                       | (96,7 - 99,9) | 84,6          | 99,5 |     |
|                         | 2                               | 198    | 30  | 0  | 167   | 1   | 15,7 | 96,8     | (83,3 - 99,9)              | 100                        | (97,8 - 100)  | 100           | 99,4 |     |
|                         | 3                               | 113    | 4   | 0  | 109   | 0   | 3,5  | 100      | (39,8 - 100)               | 100                        | (96,7 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | 4                               | 265    | 5   | 0  | 260   | 0   | 1,9  | 100      | (47,8 - 100)               | 100                        | (98,6 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | 5                               | 199    | 2   | 0  | 197   | 0   | 1,0  | 100      | (15,8 - 100)               | 100                        | (98,1 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | 6                               | 296    | 16  | 1  | 275   | 4   | 6,8  | 80,0     | (56,3 - 94,3)              | 99,6                       | (98,0 - 100)  | 94,1          | 98,6 |     |
|                         | 7                               | 102    | 0   | 0  | 102   | 0   | 0,0  |          | N/P                        | 100                        | (96,4 - 100)  | N/P           | 100  |     |
|                         | 8                               | 49     | 1   | 0  | 48    | 0   | 2,0  | 100      | (2,5 - 100)                | 100                        | (92,6 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | Tutti                           | 1.449  | 69  | 3  | 1.371 | 6   | 5,2  | 92,0     | (83,4 - 97,0)              | 99,8                       | (99,4 - 100)  | 95,8          | 99,6 |     |
| Raccolto dalla paziente | Tampone vaginale (asintomatico) | 1      | 70  | 5  | 1     | 64  | 0    | 7,1      | 100                        | (47,8 - 100)               | 98,5          | (91,7 - 100)  | 83,3 | 100 |
|                         | 2                               | 46     | 7   | 1  | 38    | 0   | 15,2 | 100      | (59,0 - 100)               | 97,4                       | (86,5 - 99,9) | 87,5          | 100  |     |
|                         | 3                               | 45     | 2   | 0  | 43    | 0   | 4,4  | 100      | (15,8 - 100)               | 100                        | (91,8 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | 4                               | 152    | 1   | 0  | 151   | 0   | 0,7  | 100      | (2,5 - 100)                | 100                        | (97,6 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | 5                               | 130    | 1   | 0  | 129   | 0   | 0,8  | 100      | (2,5 - 100)                | 100                        | (97,2 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | 6                               | 75     | 5   | 2  | 68    | 0   | 6,7  | 100      | (47,8 - 100)               | 97,1                       | (90,1 - 99,7) | 71,4          | 100  |     |
|                         | 7                               | 68     | 0   | 0  | 68    | 0   | 0,0  |          | N/P                        | 100                        | (94,7 - 100)  | N/P           | 100  |     |
|                         | 8                               | 43     | 0   | 0  | 43    | 0   | 0,0  |          | N/P                        | 100                        | (91,8 - 100)  | N/P           | 100  |     |
|                         | Tutti                           | 629    | 21  | 4  | 604   | 0   | 3,3  | 100      | (83,9 - 100)               | 99,3                       | (98,3 - 99,8) | 84,0          | 100  |     |
| Raccolto dal medico     | Tampone vaginale                | 1      | 227 | 12 | 2     | 213 | 0    | 5,3      | 100                        | (73,5 - 100)               | 99,1          | (96,7 - 99,9) | 85,7 | 100 |
|                         | 2                               | 197    | 30  | 3  | 163   | 1   | 15,7 | 96,8     | (83,3 - 99,9)              | 98,2                       | (94,8 - 99,6) | 90,9          | 99,4 |     |
|                         | 3                               | 113    | 4   | 0  | 109   | 0   | 3,5  | 100      | (39,8 - 100)               | 100                        | (96,7 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | 4                               | 263    | 5   | 3  | 255   | 0   | 1,9  | 100      | (47,8 - 100)               | 98,8                       | (96,6 - 99,8) | 62,5          | 100  |     |
|                         | 5                               | 199    | 2   | 0  | 197   | 0   | 1,0  | 100      | (15,8 - 100)               | 100                        | (98,1 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | 6                               | 295    | 19  | 3  | 272   | 1   | 6,8  | 95,0     | (75,1 - 99,9)              | 98,9                       | (96,8 - 99,8) | 86,4          | 99,6 |     |
|                         | 7                               | 102    | 0   | 0  | 102   | 0   | 0,0  |          | N/P                        | 100                        | (96,4 - 100)  | N/P           | 100  |     |
|                         | 8                               | 50     | 1   | 0  | 49    | 0   | 2,0  | 100      | (2,5 - 100)                | 100                        | (92,7 - 100)  | 100           | 100  |     |
|                         | Tutti                           | 1.446  | 73  | 11 | 1.360 | 2   | 5,2  | 97,3     | (90,7 - 99,7)              | 99,2                       | (98,6 - 99,6) | 86,9          | 99,9 |     |

TP = Vero positivo; FP = Falso positivo; TN = Vero negativo; FN = Falso negativo.

Tabella 6a Sensibilità, specificità e valori predittivi del Dosaggio Aptima GC in relazione allo stato di infezione pazienti in base al centro clinico e nel complesso per i campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt

| Centro | Risultato soluzione PreservCyt con Aptima GC | +/+ | +/- | -/+            | -/-   | Prev (%) | Sensibilità (%) (I.C. del 95%) | Specificità (%) (I.C. del 95%)      | PPV (%) | NPV (%) |
|--------|--|-----|-----|----------------|-------|----------|--------------------------------|-------------------------------------|---------|---------|
| 1      | Positivo                                     | 5   | 0   | 0              | 0     | 5,0      | 100 (5/5)<br>(47,8 - 100)      | 100 (95/95)<br>(96,2 - 100)         | 100     | 100     |
|        | Negativo                                     | 0   | 0   | 0              | 95    |          |                                |                                     |         |         |
|        | Totale                                       | 5   | 0   | 0              | 95    |          |                                |                                     |         |         |
| 2      | Positivo                                     | 1   | 0   | 0              | 0     | 0,8      | 100 (1/1)<br>(2,5 - 100)       | 100 (123/123)<br>(97,0 - 100)       | 100     | 100     |
|        | Negativo                                     | 0   | 0   | 0              | 123   |          |                                |                                     |         |         |
|        | Totale                                       | 1   | 0   | 0              | 123   |          |                                |                                     |         |         |
| 3      | Positivo                                     | 4   | 0   | 0              | 0     | 1,1      | 80,0 (4/5)<br>(28,4 - 99,5)    | 100 (470/470)<br>(99,2 - 100)       | 100     | 99,8    |
|        | Negativo                                     | 1   | 0   | 0              | 470   |          |                                |                                     |         |         |
|        | Totale                                       | 5   | 0   | 0              | 470   |          |                                |                                     |         |         |
| 4      | Positivo                                     | 1   | 0   | 0              | 3     | 0,3      | 100 (1/1)<br>(2,5 - 100)       | 99,0 (283/286)<br>(97,0 - 99,8)     | 25,0    | 100     |
|        | Negativo                                     | 0   | 0   | 3              | 280   |          |                                |                                     |         |         |
|        | Totale                                       | 1   | 0   | 3              | 283   |          |                                |                                     |         |         |
| 5      | Positivo                                     | 0   | 0   | 0              | 0     | 0,0      | N/P                            | 100 (297/297)<br>(98,8 - 100)       | N/P     | 100     |
|        | Negativo                                     | 0   | 0   | 0              | 297   |          |                                |                                     |         |         |
|        | Totale                                       | 0   | 0   | 0              | 297   |          |                                |                                     |         |         |
| 6      | Positivo                                     | 1   | 0   | 1 <sup>1</sup> | 0     | 0,3      | 100 (1/1)<br>(2,5 - 100)       | 99,7 (362/363)<br>(98,5 - 100)      | 50,0    | 100     |
|        | Negativo                                     | 0   | 0   | 2              | 360   |          |                                |                                     |         |         |
|        | Totale                                       | 1   | 0   | 3              | 360   |          |                                |                                     |         |         |
| TUTTI  | Positivo                                     | 12  | 0   | 1              | 3     | 0,8      | 92,3 (12/13)<br>(64,0 - 99,8)  | 99,8 (1.630/1.634)<br>(99,4 - 99,9) | 75,0    | 99,9    |
|        | Negativo                                     | 1   | 0   | 5              | 1.625 |          |                                |                                     |         |         |
|        | Totale                                       | 13  | 0   | 6              | 1.628 |          |                                |                                     |         |         |

N/P = Non pertinente.

+/+ = Risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima Combo 2/Risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima GC.

+/- = Risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima Combo 2/Risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima GC.

-/+ = Risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima Combo 2/Risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima GC.

-/- = Risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima Combo 2/Risultato negativo del campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima GC.

<sup>1</sup>Un campione ha avuto un risultato contraddittorio: risultato dubbio del campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima Combo 2/risultato positivo del campione di tampone endocervicale nel Dosaggio Aptima GC.

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

| Stato di infezione pazienti | NAAT 1<br>(Dosaggio Aptima Combo 2) |    | NAAT 2 |     | Dosaggio Aptima GC | Totale     |
|-----------------------------|-------------------------------------|----|--------|-----|--------------------|------------|
|                             | MS                                  | MU | MS     | MU  | MS                 |            |
| Infetto                     | +                                   | +  | +      | +   | +                  | 164        |
| Infetto                     | +                                   | +  | +      | +   | -                  | 1          |
| Infetto                     | +                                   | +  | +      | -   | +                  | 3          |
| Infetto                     | +                                   | +  | =      | +   | +                  | 1          |
| Infetto                     | +                                   | -  | +      | +   | +                  | 2          |
| Infetto                     | +                                   | -  | +      | -   | +                  | 1          |
| Non infetto                 | +                                   | -  | -      | -   | +                  | 2          |
| Non infetto                 | +                                   | -  | -      | -   | -                  | 1          |
| Non infetto                 | -                                   | +  | -      | -   | +                  | 1          |
| Non infetto                 | -                                   | -  | +      | -   | -                  | 1          |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | +   | -                  | 2          |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | -   | +                  | 3          |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | -   | +                  | 2          |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | -   | -                  | 386        |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | -   | =                  | 1          |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | N/P | -                  | 1          |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | =   | -                  | 1          |
| Non infetto                 | -                                   | -  | =      | -   | -                  | 1          |
| Non infetto                 | =                                   | -  | -      | -   | +                  | 2          |
| <b>Totale</b>               |                                     |    |        |     |                    | <b>576</b> |

**N/P** = Campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi. **MS** = Tampone di uretra maschile, sintomatico. **MU** = Urina maschile.

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

| Stato di infezione pazienti | NAAT 1<br>(Dosaggio Aptima Combo 2) |    | NAAT 2 |     | Dosaggio Aptima GC | Stato sintomatico |            | Totale       |
|-----------------------------|-------------------------------------|----|--------|-----|--------------------|-------------------|------------|--------------|
|                             | MS                                  | MU | MS     | MU  | MU                 | Sintomat.         | Asintomat. |              |
| Infetto                     | +                                   | +  | +      | +   | +                  | 164               | 8          | 172          |
| Infetto                     | +                                   | +  | +      | +   | +                  | 1                 | 0          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | +  | +      | -   | +                  | 3                 | 1          | 4            |
| Infetto                     | +                                   | +  | =      | +   | +                  | 1                 | 0          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | -  | +      | +   | +                  | 2                 | 0          | 2            |
| Infetto                     | +                                   | -  | +      | -   | -                  | 1                 | 1          | 2            |
| Non infetto                 | +                                   | +  | -      | -   | +                  | 0                 | 1          | 1            |
| Non infetto                 | +                                   | -  | -      | -   | -                  | 2                 | 13         | 15           |
| Non infetto                 | +                                   | -  | -      | -   | -                  | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | +  | -      | -   | +                  | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | +  | -      | -   | -                  | 0                 | 1          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -  | +      | -   | -                  | 1                 | 1          | 2            |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | +   | -                  | 2                 | 2          | 4            |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | -   | +                  | 3                 | 1          | 4            |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | -   | -                  | 2                 | 1          | 3            |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | -   | +                  | 0                 | 3          | 3            |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | -   | -                  | 386               | 691        | 1.077        |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | -   | -                  | 1                 | 2          | 3            |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | N/P | -                  | 1                 | 4          | 5            |
| Non infetto                 | -                                   | -  | -      | =   | -                  | 1                 | 4          | 5            |
| Non infetto                 | -                                   | -  | =      | -   | -                  | 1                 | 1          | 2            |
| Non infetto                 | -                                   | =  | -      | -   | -                  | 0                 | 1          | 1            |
| Non infetto                 | N/P                                 | -  | -      | -   | -                  | 0                 | 1          | 1            |
| Non infetto                 | =                                   | -  | -      | -   | -                  | 2                 | 6          | 8            |
| Non infetto                 | =                                   | -  | -      | -   | -                  | 0                 | 2          | 2            |
| <b>Totale</b>               |                                     |    |        |     |                    | <b>576</b>        | <b>745</b> | <b>1.321</b> |

**Sintomat.** = Sintomatico. **Asintomat.** = Asintomatico. **N/P** = Campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi. **MS** = Tampone di uretra maschile; **MU** = Urina maschile.

Tabella 7c Risultati per i campioni di tampone endocervicale e di urina femminile in soggetti infetti o non infetti da *N. gonorrhoeae* in base allo stato di infezione pazienti

| Stato di infezione pazienti | NAAT 1<br>(Dosaggio Aptima Combo 2) |     | NAAT 2 |     | Dosaggio Aptima GC |     | Stato sintomatico |            | Totale       |
|-----------------------------|-------------------------------------|-----|--------|-----|--------------------|-----|-------------------|------------|--------------|
|                             | FS                                  | FU  | FS     | FU  | FS                 | FU  | Sintomat.         | Asintomat. |              |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | +   | +                  | +   | 43                | 16         | 59           |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | +   | +                  | -   | 2                 | 0          | 2            |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | -   | +                  | +   | 2                 | 1          | 3            |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | -   | +                  | -   | 0                 | 1          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | N/P | +                  | +   | 1                 | 0          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | +   | -      | +   | +                  | +   | 1                 | 1          | 2            |
| Infetto                     | +                                   | +   | -      | -   | +                  | +   | 1                 | 1          | 2            |
| Infetto                     | +                                   | -   | +      | +   | +                  | -   | 1                 | 0          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | -   | +      | -   | +                  | +   | 0                 | 1          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | -   | +      | -   | +                  | -   | 2                 | 0          | 2            |
| Infetto                     | -                                   | +   | +      | +   | -                  | +   | 1                 | 0          | 1            |
| Infetto                     | -                                   | +   | -      | +   | -                  | +   | 0                 | 1          | 1            |
| Infetto                     | -                                   | +   | -      | +   | =                  | +   | 0                 | 1          | 1            |
| Infetto                     | -                                   | -   | +      | +   | -                  | -   | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | +                                   | -   | -      | -   | +                  | -   | 4                 | 1          | 5            |
| Non infetto                 | +                                   | -   | -      | -   | -                  | -   | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | +   | -      | -   | -                  | -   | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | +      | -   | +                  | -   | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | +      | -   | -                  | -   | 5                 | 2          | 7            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | +   | -                  | -   | 2                 | 2          | 4            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | +                  | -   | 1                 | 2          | 3            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | -                  | +   | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | -                  | -   | 718               | 589        | 1.307        |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | =                  | -   | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | N/P | -                  | -   | 2                 | 3          | 5            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | =   | -                  | -   | 11                | 11         | 22           |
| Non infetto                 | -                                   | -   | =      | -   | -                  | -   | 1                 | 1          | 2            |
| Non infetto                 | -                                   | N/P | -      | -   | -                  | N/P | 1                 | 1          | 2            |
| Non infetto                 | N/P                                 | -   | -      | -   | N/P                | -   | 5                 | 4          | 9            |
| Non infetto                 | =                                   | -   | -      | -   | +                  | -   | 1                 | 1          | 2            |
| <b>Totale</b>               |                                     |     |        |     |                    |     | <b>811</b>        | <b>640</b> | <b>1.451</b> |

**Sintomat.** = Sintomatico. **Asintomat.** = Asintomatico. **N/P** = Campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi. **FS** = Tampone endocervicale femminile. **FU** = Urina femminile.



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

| Stato di infezione pazienti | NAAT 1<br>(Dosaggio Aptima Combo 2) |     | NAAT 2 |     | Dosaggio Aptima GC |     | Stato sintomatico |            | Totale       |
|-----------------------------|-------------------------------------|-----|--------|-----|--------------------|-----|-------------------|------------|--------------|
|                             | FS                                  | FU  | FS     | FU  | PVS                | CVS | Sintomat          | Asintomat  |              |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | +   | +                  | +   | 43                | 15         | 58           |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | +   | -                  | +   | 1                 | 0          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | +   | -                  | -   | 1                 | 0          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | +   | N/P                | +   | 0                 | 1          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | -   | +                  | +   | 2                 | 2          | 4            |
| Infetto                     | +                                   | +   | +      | N/P | +                  | +   | 1                 | 0          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | +   | -      | +   | +                  | +   | 1                 | 1          | 2            |
| Infetto                     | +                                   | +   | -      | -   | +                  | +   | 1                 | 1          | 2            |
| Infetto                     | +                                   | -   | +      | +   | +                  | +   | 1                 | 0          | 1            |
| Infetto                     | +                                   | -   | +      | -   | +                  | +   | 2                 | 1          | 3            |
| Infetto                     | -                                   | +   | +      | +   | +                  | +   | 1                 | 0          | 1            |
| Infetto                     | -                                   | +   | -      | +   | +                  | +   | 0                 | 1          | 1            |
| Infetto                     | -                                   | +   | -      | +   | +                  | -   | 0                 | 1          | 1            |
| Infetto                     | -                                   | -   | +      | +   | -                  | -   | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | +                                   | -   | -      | -   | -                  | -   | 5                 | 1          | 6            |
| Non infetto                 | -                                   | +   | -      | -   | -                  | -   | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | +      | -   | +                  | +   | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | +      | -   | -                  | -   | 5                 | 2          | 7            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | +   | +                  | +   | 0                 | 1          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | +   | -                  | -   | 2                 | 1          | 3            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | +                  | +   | 2                 | 1          | 3            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | +                  | -   | 3                 | 1          | 4            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | -                  | +   | 3                 | 1          | 4            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | -                  | -   | 696               | 577        | 1.273        |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | -                  | N/P | 0                 | 1          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | -                  | =   | 0                 | 1          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | N/P                | -   | 16                | 9          | 25           |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | -   | N/P                | N/P | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | N/P | -                  | -   | 2                 | 2          | 4            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | N/P | N/P                | -   | 0                 | 1          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | =   | -                  | -   | 11                | 10         | 21           |
| Non infetto                 | -                                   | -   | -      | =   | -                  | N/P | 0                 | 1          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | -   | =      | -   | -                  | -   | 1                 | 1          | 2            |
| Non infetto                 | -                                   | N/P | -      | -   | -                  | -   | 0                 | 1          | 1            |
| Non infetto                 | -                                   | N/P | -      | -   | N/P                | N/P | 1                 | 0          | 1            |
| Non infetto                 | N/P                                 | -   | -      | -   | -                  | -   | 5                 | 4          | 9            |
| Non infetto                 | =                                   | -   | -      | -   | -                  | -   | 1                 | 1          | 2            |
| <b>Totale</b>               |                                     |     |        |     |                    |     | <b>811</b>        | <b>640</b> | <b>1.451</b> |

**Sintomat.** = Sintomatico. **Asintom.** = Asintomatico. **N/P** = Campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) indica un risultato dubbio o indeterminato alla ripetizione dell'analisi. **FS** = Tampone endocervicale femminile; **FU** = Urina femminile. **PVS** = Tampone vaginale raccolto dalla paziente; **CVS** = Tampone vaginale raccolto dal medico.

Tabella 7e Risultati dello stato di infezione pazienti dello studio clinico sui campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt per *N. gonorrhoeae*

| Stato di infezione pazienti | Tampone endocervicale   |                    | Stato sintomatico |              |
|-----------------------------|-------------------------|--------------------|-------------------|--------------|
|                             | Dosaggio Aptima Combo 2 | Dosaggio Aptima GC | Sintomatico       | Asintomatico |
| Infetto                     | Positivo                | Positivo           | 7                 | 6            |
| Non infetto                 | Negativo                | Negativo           | 352               | 1.276        |
| Non infetto                 | Negativo                | Positivo           | 0                 | 5            |
| Non infetto                 | Dubbio                  | Positivo           | 0                 | 1            |
| <b>Totale</b>               |                         |                    | <b>359</b>        | <b>1.288</b> |

## Distribuzione RLU dei Controlli Aptima

La distribuzione delle RLU per il Controllo positivo, GC / Controllo negativo, CT Aptima e per il Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC Aptima derivante da tutte le sedute sul Dosaggio Aptima GC eseguite durante gli studi clinici sui campioni è presentata nella Tabella 8.

Tabella 8 Distribuzione delle RLU dei Controlli Aptima durante gli studi clinici sui campioni comprendenti tamponi endocervicali, vaginali e di uretra maschile, e campioni di urina maschile e femminile, e durante gli studi sui campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt

| Controllo                                       | Statistica     | RLU (x1.000)                                      |  |
|---|----------------|---|--|
|   |                | Studio clinico sui campioni di tampone e di urina | Studio clinico relativo ai campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt |
| Controllo positivo, GC / Controllo negativo, CT | N              | 193   | 218  |
|   | Media          | 5.048   | 4.561  |
|   | DS             | 1.071   | 1.295  |
|   | Massimo        | 6.765   | 6.791  |
|   | 75° percentile | 5.763   | 5.450  |
|   | Mediana        | 5.175   | 4.859  |
|   | 25° percentile | 4.645   | 3.804  |
|   | Minimo         | 229   | 158  |
| Controllo positivo, CT / Controllo negativo, GC | N              | 193   | 218  |
|   | Media          | 2,15  | 2,60   |
|   | DS             | 2,20  | 2,80   |
|   | Massimo        | 20  | 29   |
|   | 75° percentile | 2   | 3  |
|   | Mediana        | 2   | 2  |
|   | 25° percentile | 1   | 2  |
|   | Minimo         | 0   | 1  |

## Studio sulla precisione

La precisione del Dosaggio Aptima GC (es. riproducibilità) è stata valutata presso due centri clinici esterni e in Hologic. La precisione del Dosaggio Aptima GC è stata valutata nell'ambito di tre lotti di kit del Dosaggio Aptima GC, tre centri di studio, sei operatori e 108 sedute sul Dosaggio Aptima GC. Due operatori per ciascuno dei tre centri di analisi hanno eseguito un totale di sei sedute sul Dosaggio Aptima GC per lotto di kit, per un totale di 36 sedute per lotto di kit. Ogni seduta consisteva di un pannello di precisione da 12 componenti, contenenti da 0 a 2.433 fg/dosaggio di GC rRNA. La riproducibilità è stata stabilita usando un mezzo di trasporto del tampone addizionato di rRNA. Non è stata determinata la riproducibilità nell'analisi di campioni di tampone e di urina contenenti organismo target. La Tabella 9 presenta i dati RLU di precisione in termini di Media, Deviazione Standard, Coefficiente di Variazione (CV) e concordanza percentuale con i risultati previsti per i calcoli di variabilità fra diversi centri, fra diversi operatori, fra diversi lotti, fra diverse sedute e nell'ambito di una stessa seduta.

Tabella 9 Dati sulla precisione del Dosaggio Aptima GC usando un pannello di precisione da 12 componenti contenenti da 0 a 2.433 fg/dosaggio di GC rRNA

| Concentrazione          | N   | Media RLU (x1.000) | % Concor. | Nella seduta    |        | Tra centri diversi |        | Tra lotti diversi |        | Tra operatori diversi |        | Tra diverse sedute |        |
|-------------------------|-----|--------------------|-----------|-----------------|--------|--------------------|--------|-------------------|--------|-----------------------|--------|--------------------|--------|
|                         |     |                    |           | DS (RLU x1.000) | CV (%) | DS (RLU x1.000)    | CV (%) | DS (RLU x1.000)   | CV (%) | DS (RLU x1.000)       | CV (%) | DS (RLU x1.000)    | CV (%) |
| Neg (0 fg/mL)           | 540 | 11,7               | 99,8      | 233,3           | N/P    | 0                  | N/P    | 0                 | N/P    | 4,3                   | N/P    | 0                  | N/P    |
| Basso (608 - 625 fg/mL) | 324 | 5.574,4            | 99,7      | 617,2           | 11,1   | 189,2              | 3,4    | 518,1             | 9,3    | 311,3                 | 5,6    | 527,4              | 9,5    |
| Medio (6.082 fg/mL)     | 108 | 6.502,6            | 100       | 138,8           | 2,1    | 0                  | 0,0    | 481,9             | 7,4    | 514,8                 | 7,9    | 579,4              | 8,9    |
| Alto (12.500 fg/mL)     | 324 | 6.786,0            | 100       | 270,3           | 4,0    | 0                  | 0,0    | 581,3             | 8,6    | 410,7                 | 6,1    | 647,1              | 9,5    |

DS = Deviazione Standard; %CV = Coefficiente di Variazione percentuale; % Concor. = Concordanza percentuale; N/P = Non pertinente per gli analiti negativi.

**Nota:** La variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, cosa che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola. Quando questo si verifica, la variabilità misurata con standard di deviazione e %CV viene impostata su zero (13).

La precisione del Dosaggio Aptima GC con i campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt nell'ambito del laboratorio è stata determinata aggiungendo ai flaconi di PreservCyt 20 CFU GC per flacone (0,1 CFU per reazione) e 100 CFU GC per flacone (0,5 CFU per reazione). I flaconi contenenti 10.000 CFU GC ciascuno (50 CFU per reazione) e i flaconi di soluzione PreservCyt non addizionati sono stati analizzati come controlli positivi e negativi. I dieci flaconi addizionati a ogni livello di CFU e i dieci flaconi non addizionati sono stati suddivisi tra i due operatori. Gli operatori hanno agitato sul vortex i flaconi e poi trasferito 14 aliquote (1,0 mL ciascuno) per flacone nelle 14 provette di trasferimento secondo quanto indicato nell'insero informativo del Kit di trasferimento dei campioni Aptima. Gli operatori non conoscevano il titolo dei campioni. Tutti i campioni Pap-STM risultanti sono stati analizzati una volta nel Dosaggio Aptima GC. In tutto sono state eseguite un totale di cinque sedute in un periodo di cinque giorni con 140 risultati al livello di 0,1, 0,5 e 50 CFU. Per il pannello di controllo negativo si sono ottenuti 136 risultati validi e 4 risultati non validi. I risultati non validi sono stati causati da un errato posizionamento di un'unità a dieci provette (TTU) nel Leader HC+. I risultati sono riassunti nella Tabella 10.

Tabella 10 Dati sulla precisione in laboratorio del Dosaggio Aptima GC per la soluzione PreservCyt usando un pannello di precisione da 4 componenti contenenti da 0 a 500 CFU/mL di cellule GC

| Compo-<br>nente del<br>pannello | Preser-<br>vCyt CFU/<br>mL | CFU/<br>rxn | n    | Concor-<br>danza | % Con-<br>cor. | Media<br>RLU<br>(x1.000) | Stesso<br>operatore |       | Tra diversi<br>giorni |      | Tra operatori<br>diversi |      | Totale         |       |
|---------------------------------|----------------------------|-------------|------|------------------|----------------|--------------------------|---------------------|-------|-----------------------|------|--------------------------|------|----------------|-------|
|                                 |                            |             |      |                  |                |                          | DS<br>(x1.000)      | CV %  | DS<br>(x1.000)        | CV % | DS<br>(x1.000)           | CV % | DS<br>(x1.000) | CV %  |
| A                               | 1                          | 0,1         | 140  | 39               | 27,9           | 313,7                    | 758,3               | 241,7 | 132,5                 | 42,2 | 0,0                      | 0,0  | 769,8          | 245,4 |
| B                               | 5                          | 0,5         | 140  | 113              | 80,7           | 1.211,1                  | 1.031,3             | 85,2  | 169,8                 | 14,0 | 150,4                    | 12,4 | 1.056,0        | 87,2  |
| C                               | 500                        | 50          | 140  | 140              | 100            | 5.636,8                  | 220,7               | 3,9   | 135,7                 | 2,4  | 0,0                      | 0,0  | 259,1          | 4,6   |
| D                               | 0                          | 0           | 136* | 136              | 100            | 1,2                      | 0,5                 | N/P   | 0                     | N/P  | 0,3                      | N/P  | 0,6            | N/P   |

\* Quattro sono stati i risultati non validi causati da un errato posizionamento di un'unità a dieci provette (TTU) nel Leader HC+.

**Nota:** La variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, cosa che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola. Quando questo si verifica, la variabilità misurata con standard di deviazione e %CV viene impostata su zero (13). N/P = Non pertinente per i componenti del pannello negativo. Operatore = Seduta. I campioni con risultati contraddittori o dubbi sono stati inclusi nell'analisi della variabilità del segnale.

## Prestazioni analitiche dei Sistemi DTS

Vedere *Prestazioni analitiche del Sistema Tigris DTS* dopo la sezione *Concordanza dei campioni clinici sul Sistema Tigris DTS* per le prestazioni analitiche specifiche del Sistema Tigris DTS.

Vedere *Prestazioni analitiche del Sistema Panther* per le prestazioni analitiche specifiche del Sistema Panther.

### **Sensibilità analitica**

La sensibilità analitica per *N. gonorrhoeae* (limite di rilevamento) è stata determinata confrontando direttamente diluizioni di 51 diversi isolati clinici in coltura e nel Dosaggio Aptima GC. La dichiarazione di sensibilità analitica per il dosaggio è di 50 CFU/dosaggio (362 CFU/tampone, 250 CFU/mL di urina e 487,5 CFU/mL di Pap liquido [liquid Pap] in soluzione PreservCyt).

### **Specificità analitica**

Un totale di 154 isolati di coltura sono stati valutati usando il Dosaggio Aptima GC. Questi isolati includevano 86 organismi che potrebbero essere isolati dal tratto urogenitale e 68 ulteriori organismi che rappresentano uno spaccato filogenetico degli organismi. Gli organismi analizzati includevano batteri, funghi, lieviti, parassiti e virus. Tutti gli organismi, ad eccezione di *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* e dei virus, sono stati analizzati a  $1,0 \times 10^6$  cellule/dosaggio in mezzo di trasporto dell'urina KOVA-Trol, mentre 60 organismi sono stati analizzati in mezzo di trasporto del tampone. Gli organismi Chlamydia e Neisseria sono stati analizzati in soluzione PreservCyt. *C. psittaci* VR601 è stato analizzato a  $8,0 \times 10^4$  cellule/dosaggio e *C. psittaci* VR125 è stato analizzato a  $1,0 \times 10^5$  cellule/dosaggio. *C. pneumoniae* è stato analizzato a  $4,0 \times 10^3$  cellule/dosaggio e *U. urealyticum* è stato analizzato a  $6,7 \times 10^6$  cellule/dosaggio. I virus sono stati analizzati come segue: (a) virus dell'Herpes simplex I:  $2,5 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/dosaggio, (b) virus dell'Herpes simplex II:  $6,0 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/dosaggio, (c) virus del papilloma umano 16:  $2,9 \times 10^6$  copie di DNA/dosaggio e (d) cytomegalovirus:  $4,8 \times 10^5$  cellule/dosaggio. L'elenco degli organismi analizzati è illustrato nella Tabella 11.

Tabella 11 Specificità analitica

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

(n) = numero dei ceppi analizzati.

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

## Sostanze interferenti

Le seguenti sostanze interferenti sono state aggiunte individualmente ai campioni di tampone, Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt e/o urina: sangue al 10%, gel per uso anticoncezionale, spermicida, idratante, anestetico antiemorroidale, olio per il corpo, talco, crema antifungina, lubrificanti vaginali, spray femminili e leucociti ( $1,0 \times 10^6$  cellule/mL).

Le seguenti sostanze interferenti sono state aggiunte individualmente ai campioni di urina: sangue al 30%, analiti dell'urina, proteina, glucosio, chetoni, bilirubina, nitrato, urobilinogeno, pH 4 (acido), pH 9 (alcalino), leucociti ( $1,0 \times 10^6$  cellule/mL), detriti cellulari, vitamine, minerali, acetaminofene, aspirina ed ibuprofene. Tutte sono state testate per una potenziale interferenza con il dosaggio in assenza e in presenza di GC all'equivalente stimato di rRNA di 50 cellule di GC/dosaggio (250 fg/dosaggio). Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ciascun organismo.

Non è stata osservata alcuna interferenza con nessuna delle sostanze analizzate. Non si sono rilevati inibitori dell'amplificazione nel Dosaggio Aptima GC.

## Recupero

*Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus* e *Staphylococcus epidermidis* ( $1,0 \times 10^8$  cellule/dosaggio) stati aggiunti a campioni contenenti l'equivalente di rRNA di circa 50 cellule di GC (250 fg). Queste aggiunte non hanno interferito con l'amplificazione e con il rilevamento di GC rRNA usando il Dosaggio Aptima GC.

## Studi sulla stabilità dei campioni

### A. Campioni di tampone e di urina

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni di tampone endocervicale, di uretra e vaginale sono stati generati con campioni di tamponi negativi raggruppati. I campioni raggruppati sono stati addizionati di GC a concentrazioni finali di circa 50 CFU per reazione. I campioni arricchiti sono stati tenuti a  $-70^\circ\text{C}$ ,  $-20^\circ\text{C}$ ,  $4^\circ\text{C}$  e  $30^\circ\text{C}$ . I campioni sono stati analizzati in duplicato nei giorni 0, 20, 77 e 117. Tutte le condizioni di analisi sono risultate positive per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni di urina sono stati generati con campioni di urina femminile e maschile negativi. I campioni di urina sono stati addizionati di GC a concentrazioni finali di 100 CFU per reazione. I campioni arricchiti sono stati tenuti a  $30^\circ\text{C}$  per 24 ore prima di essere aggiunti al mezzo di trasporto dell'urina (UTM). I campioni UTM sono stati quindi tenuti a  $4^\circ\text{C}$  e  $30^\circ\text{C}$ , e analizzati in triplicato nei giorni 1, 14, 32 e 35. I campioni UTM sono stati anche tenuti a  $-20^\circ\text{C}$  e  $-70^\circ\text{C}$ , e analizzati in triplicato nei giorni 1, 35 e 109. Tutti i replicati sono risultati positivi per GC con i campioni UTM tenuti a  $4^\circ\text{C}$  e  $-70^\circ\text{C}$ . Quando i campioni erano stati tenuti a  $30^\circ\text{C}$ , il 94% dei replicati erano risultati positivi per GC al giorno 35. Quando i campioni erano stati tenuti a  $-20^\circ\text{C}$ , il 98% dei replicati erano risultati positivi per GC al giorno 109.

### B. Campioni Pap liquidi (liquid Pap) in Soluzione PreservCyt

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt sono stati generati con campioni Pap liquidi (liquid Pap) trattati e non trattati negativi. Per i campioni non trattati, quattro gruppi di campioni in soluzione PreservCyt sono stati analizzati dopo essere stati tenuti nel flacone della soluzione PreservCyt di Cytoc. Ogni gruppo di campioni è stato arricchito con 50 - 100 CFU GC/dosaggio, tenuto a  $2^\circ\text{C}$ ,  $10^\circ\text{C}$  e  $30^\circ\text{C}$ , e poi analizzato

a livello della linea di base e nei giorni 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 e 36. Tutti i campioni arricchiti sono risultati positivi per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

Per i campioni trattati, quattro gruppi di campioni in soluzione PreservCyt sono stati usati per determinare la stabilità dei campioni trattati tra 2 °C e 30 °C. Tutti i gruppi di campioni negativi sono stati arricchiti con 50 - 100 CFU GC/dosaggio e poi testati a livello della linea di base. Prima dell'analisi, i campioni in soluzione PreservCyt sono stati tenuti a 30 °C per sette (7) giorni per simulare l'intervallo di tempo tra la raccolta dei campioni, il trattamento Pap e la spedizione al laboratorio di analisi di microbiologia. Dopo sette giorni a 30 °C, aliquote di 1 mL di ciascun raggruppamento sono state trasferite in una provetta di trasferimento del campione Aptima e analizzate a livello della linea di base prima di essere tenute a 2 °C, 10 °C e 30 °C. I campioni trattati sono stati poi analizzati per 17 giorni, conservati a 30 °C, e per 36 giorni, conservati tra 2 °C e 10 °C. Tutti i campioni arricchiti sono risultati positivi per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

I dati a sostegno di condizioni di conservazione più lunghe sono stati generati da quattro raggruppamenti di campioni negativi trattati con soluzione PreservCyt, analizzati a temperature al di sotto dello zero. Tutti i gruppi sono stati arricchiti con 50 - 100 CFU GC/dosaggio e poi testati a livello della linea di base. Ogni gruppo è stato dapprima tenuto a 30 °C per 14 giorni e poi conservato a -20 °C o -70 °C nel corso di 106 giorni. Tutti i campioni arricchiti sono risultati positivi per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

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

Sono stati generati dati a supporto delle condizioni di conservazione a -20 °C raccomandate per i campioni di tampone endocervicale, di tampone di uretra, di tampone vaginale, di urina femminile, di urina maschile e Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt, usando 90 campioni di ciascun tipo con risultati negativi, 30 dei quali sono stati addizionati di GC a 50 CFU per reazione, 30 a 5 CFU per reazione e 30 sono stati lasciati invariati. I campioni sono stati conservati a -20 °C e analizzati nei giorni 0, 200 e 400. Tutti i campioni addizionati hanno soddisfatto i criteri di accettazione della concordanza del 95% con i risultati previsti.



## **Concordanza dei campioni clinici sul Sistema Tigris DTS**

### **Concordanza sul Sistema Tigris DTS**

La concordanza fra i risultati del Dosaggio Aptima GC generati sul Sistema Tigris DTS completamente automatizzato e sui sistemi DTS semi-automatizzati è stata valutata analizzando campioni di tampone endocervicale, di tampone di uretra maschile, di urina femminile e maschile, di tampone vaginale e Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt. Ciascuno dei campioni clinici è stato analizzato individualmente con il Dosaggio Aptima GC sia sul Sistema Tigris DTS che sui sistemi DTS presso Hologic. L'ordine di analisi non era randomizzato. I campioni identificati per il trattamento sono stati analizzati sul Sistema Tigris DTS e successivamente sui sistemi DTS.

### **Studio sulla concordanza dei campioni clinici – Campioni di tampone endocervicale, di tampone di uretra maschile, di urina maschile e femminile, di tampone vaginale e di tamponi Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt**

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

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

La Tabella 12 mostra le concordanze positive, negative e complessive per tutti i risultati abbinati per ciascun tipo di campione in relazione allo stato sintomatico. I campioni di tampone femminile (endocervicale e vaginale combinati) sono sbilanciati quanto a campioni positivi e negativi provenienti da soggetti sintomatici, ma la concordanza complessiva è risultata del 100% per i soggetti sintomatici, del 97,6% (40/41) per i soggetti asintomatici e del 99,2% (128/129) per 'tutti' i soggetti (sintomatici e asintomatici combinati). Per i campioni di tampone di uretra maschile, la concordanza complessiva per i soggetti sintomatici, per quelli asintomatici e per 'tutti' i soggetti nel loro insieme è risultata del 100%. Per i campioni di urina femminile, la concordanza complessiva è risultata del 100% per i soggetti sintomatici, del 96,0% (24/25) per i soggetti asintomatici e del 98,6% (71/72) per 'tutti' i soggetti.

Per i campioni di urina maschile, la concordanza complessiva è risultata del 98,6% per i soggetti sintomatici (69/70), del 100,0% per i soggetti asintomatici e del 99,2% (129/130) per 'tutti' i soggetti. Per i campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt, la concordanza complessiva per i soggetti sintomatici, per quelli asintomatici e per 'tutti' i soggetti nel loro insieme è risultata del 100%. Dato il numero relativamente inferiore di campioni provenienti da soggetti asintomatici, le conclusioni non possono essere generalizzabili alle analisi eseguite con il Dosaggio Aptima GC sul Sistema Tigris DTS per i campioni provenienti da soggetti asintomatici.

Consultare la Tabella 4 per le stime sulle prestazioni del Dosaggio Aptima GC per i campioni di tampone endocervicale, di tampone vaginale, di tampone di uretra maschile, e di urina maschile e femminile, e la Tabella 5a per i campioni Pap liquidi (liquid Pap) analizzati sui sistemi DTS. Dati gli esiti di concordanza, ci si aspetterebbe che le stime delle prestazioni cliniche per il Sistema Tigris DTS con campioni di tampone endocervicale, di tampone vaginale, di tampone di uretra maschile, di urina femminile e maschile e Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt fossero simili.

Tabella 12 Studio sulla concordanza dei campioni clinici: Concordanze positive, negative e complessive in base allo stato sintomatico

| Sintomo    | Campione   | Sesso      | n         | DTS+ Tigris+ | DTS+ Tigris- | DTS- Tigris+   | DTS- Tigris- | Concordanza % positiva (I.C. del 95%) | Concordanza % negativa (I.C. del 95%) | Concordanza % complessiva (I.C. del 95%) |                     |
|------------|------------|------------|-----------|--------------|--------------|----------------|--------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|---------------------|
| Sintomat.  | Tampone    | Femminile* | 88        | 55           | 0            | 0              | 33           | 100<br>(93,5 - 100)                   | 100<br>(89,4 - 100)                   | 100<br>(95,9 - 100)                      |                     |
|            |            | Maschile   | 93        | 66           | 0            | 0              | 27           | 100<br>(94,6 - 100)                   | 100<br>(87,2 - 100)                   | 100<br>(96,1 - 100)                      |                     |
|            | Urina      | Femminile  | 47        | 24           | 0            | 0              | 23           | 100<br>(85,8 - 100)                   | 100<br>(85,2 - 100)                   | 100<br>(92,5 - 100)                      |                     |
|            |            | Maschile   | 70        | 60           | 1            | 0              | 9            | 98,4<br>(91,2 - 100)                  | 100<br>(66,4 - 100)                   | 98,6<br>(92,3 - 100)                     |                     |
|            | PreservCyt | Femminile  | 34        | 28           | 0            | 0              | 6            | 100<br>(87,7 - 100)                   | 100<br>(54,1 - 100)                   | 100<br>(89,7 - 100)                      |                     |
| Asintomat. | Tampone    | Femminile* | 41        | 23           | 0            | 1 <sup>1</sup> | 17           | 100<br>(85,2 - 100)                   | 94,4<br>(72,7 - 99,9)                 | 97,6<br>(87,1 - 99,9)                    |                     |
|            |            | Maschile   | 40        | 7            | 0            | 0              | 33           | 100<br>(59,0 - 100)                   | 100<br>(89,4 - 100)                   | 100<br>(91,2 - 100)                      |                     |
|            | Urina      | Femminile  | 25        | 9            | 0            | 1              | 15           | 100<br>(66,4 - 100)                   | 93,8<br>(69,8 - 99,8)                 | 96,0<br>(79,6 - 99,9)                    |                     |
|            |            | Maschile   | 60        | 5            | 0            | 0              | 55           | 100<br>(47,8 - 100)                   | 100<br>(93,5 - 100)                   | 100<br>(94,0 - 100)                      |                     |
|            |            | PreservCyt | Femminile | 17           | 12           | 0              | 0            | 5                                     | 100<br>(73,5 - 100)                   | 100<br>(47,8 - 100)                      | 100<br>(80,5 - 100) |

"+" indica un risultato positivo, "-" indica un risultato negativo, I.C. = Intervallo di confidenza.

\*Campioni di tampone endocervicale e vaginale combinati.

<sup>1</sup>Una discordanza tra i tamponi vaginali.

Tabella 12 Studio sulla concordanza dei campioni clinici: Concordanze positive, negative e complessive in base allo stato sintomatico (Continua)

| Sintomo | Campione   | Sesso      | n   | DTS+<br>Tigris+ | DTS+<br>Tigris- | DTS-<br>Tigris+ | DTS-<br>Tigris- | Concordanza<br>% positiva<br>(I.C. del 95%) | Concordanza<br>% negativa<br>(I.C. del 95%) | Concordanza%<br>complessiva<br>(I.C. del 95%) |
|---------|------------|------------|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---|---|---|
|         | Tamponi    | Femminile* | 129 | 78              | 0               | 1 <sup>1</sup>  | 50              | 100<br>(95,4 - 100)                         | 98,0<br>(89,6 - 100)                        | 99,2<br>(95,8 - 100)                          |
|         |            | Maschile   | 133 | 73              | 0               | 0               | 60              | 100<br>(95,1 - 100)                         | 100<br>(94,0 - 100)                         | 100<br>(97,3 - 100)                           |
| Tutti   | Urina      | Femminile  | 72  | 33              | 0               | 1               | 38              | 100<br>(89,4 - 100)                         | 97,4<br>(86,5 - 99,9)                       | 98,6<br>(92,5 - 100)                          |
|         |            | Maschile   | 130 | 65              | 1               | 0               | 64              | 98,5<br>(91,8 - 100)                        | 100<br>(94,4 - 100)                         | 99,2<br>(95,8 - 100)                          |
|         | PreservCyt | Femminile  | 51  | 40              | 0               | 0               | 11              | 100<br>(91,2 - 100)                         | 100<br>(71,5 - 100)                         | 100<br>(93,0 - 100)                           |

“+” indica un risultato positivo, “-” indica un risultato negativo, I.C. = Intervallo di confidenza.

\*Campioni di tampone endocervicale e vaginale combinati.

<sup>1</sup>Una discordanza tra i tamponi vaginali.

## Studio sulla precisione

L'effetto di diversi fattori sulla variabilità delle prestazioni del Dosaggio Aptima GC sul Sistema Tigris DTS è stato valutato usando pannelli di riproducibilità STD da 12 componenti. I componenti del pannello contenevano da 0 a 250.000 fg GC rRNA/dosaggio. Il pannello comprendeva componenti con concentrazioni di GC alla sensibilità analitica dichiarata di 250 fg GC rRNA/dosaggio.

I pannelli sono stati analizzati presso un centro di analisi esterno e in Hologic usando 2 lotti di reagenti del Dosaggio Aptima GC. In Hologic, 2 operatori hanno eseguito ciascuno 3 liste di lavoro valide per lotto di reagenti su ognuno dei 2 strumenti del Sistema Tigris DTS. Presso il centro di analisi esterno, 2 operatori hanno eseguito ciascuno 3 liste di lavoro valide per lotto di reagenti su 1 strumento del Sistema Tigris DTS. Una lista di lavoro consisteva di controlli delle sedute e di sei pannelli da 12 componenti. I campioni con risultati iniziali non validi o dubbi provenienti da liste di lavoro valide non sono stati rianalizzati. Undici campioni hanno prodotto risultati finali non validi e sono stati esclusi dalle analisi di riproducibilità.

La riproducibilità è stata determinata calcolando la concordanza tra i risultati finali del dosaggio e l'esito previsto per ciascun componente del pannello. La riproducibilità è stata anche valutata calcolando la deviazione standard (DS) e il coefficiente di variazione (CV) del segnale in relazione ai centri, agli operatori, ai lotti e alle liste di lavoro. I CV non sono stati calcolati per i componenti del pannello negativi per GC a causa dei valori bassi del segnale, teoricamente approssimabili allo zero. La Tabella 13 mostra i risultati della riproducibilità. Tutti i risultati del Dosaggio Aptima GC sul Sistema Tigris DTS concordavano con i risultati previsti per i componenti del pannello contenenti 0, 250, 25.000, e 250.000 fg GC rRNA/dosaggio. Per i componenti del pannello contenenti 2.500 fg GC rRNA/dosaggio, la concordanza con i risultati previsti è stata del 99,8%. I valori di CV erano inferiori o uguali a 9,0%. Dati come questi indicano una buona riproducibilità del Dosaggio Aptima GC con il Sistema Tigris DTS.

Tabella 13 Dati sulla precisione del Sistema Tigris DTS

| Conc.<br>(fg rRNA<br>per<br>dosaggio) | n                | Media<br>RLU<br>(x1.000) | %<br>Concor. | Tra centri diversi |      | Tra operatori<br>diversi    |      | Tra lotti diversi |      | Tra liste di<br>lavoro |      | Nella lista<br>di lavoro |      |
|---------------------------------------|------------------|--------------------------|--------------|--------------------|------|-----------------------------|------|-------------------|------|------------------------|------|--------------------------|------|
|                                       |                  |                          |              | DS<br>(x1.000)     | CV % | DS <sup>1</sup><br>(x1.000) | CV % | DS<br>(x1.000)    | CV % | DS<br>(x1.000)         | CV % | DS<br>(x1.000)           | CV % |
| 0                                     | 859 <sup>2</sup> | 4,6                      | 100          | 1,7                | N/P  | 0,0                         | N/P  | 0,3               | N/P  | 0,7                    | N/P  | 2,7                      | N/P  |
| 250                                   | 429 <sup>3</sup> | 4.148                    | 100          | 236                | 5,7  | 170                         | 4,1  | 212               | 5,1  | 94,9                   | 2,3  | 222                      | 5,3  |
| 2.500                                 | 429 <sup>4</sup> | 5.361                    | 99,8         | 275                | 5,1  | 145                         | 2,7  | 273               | 5,1  | 25,1                   | 0,5  | 482                      | 9,0  |
| 25.000                                | 430 <sup>5</sup> | 5.871                    | 100          | 325                | 5,5  | 163                         | 2,8  | 303               | 5,2  | 106                    | 1,8  | 176                      | 3,0  |
| 250.000                               | 431 <sup>6</sup> | 6.037                    | 100          | 317                | 5,2  | 167                         | 2,8  | 303               | 5,0  | 126                    | 2,1  | 186                      | 3,1  |

Concor. = Concordanza, Conc. = Concentrazione, CV = Coefficiente di variazione, N/P = Non pertinente per i campioni negativi, RLU = Unità relative di luce, DS = Deviazione standard.

<sup>1</sup> I valori di DS e CV sono impostati rispettivamente sul 0 e 0,0% in base al modello ad effetti casuali, se la variabilità dovuta a questa causa rispetto agli errori casuali e/o alla variazione di altre cause è numericamente negativa.

<sup>2</sup> Quattro campioni sono stati esclusi dall'analisi a causa di risultati finali non validi. In una lista di lavoro, inoltre, mancava 1 replicato per ogni componente del pannello negativo per GC.

<sup>3</sup> Tre campioni sono stati esclusi dall'analisi a causa di risultati finali non validi.

<sup>4</sup> Due campioni sono stati esclusi dall'analisi a causa di risultati finali non validi. In due liste di lavoro mancava anche 1 replicato per ogni componente del pannello con 2.500 fg GC rRNA/dosaggio e in una lista di lavoro era presente 1 replicato in più di un componente del pannello con 2.500 fg GC rRNA/dosaggio.

<sup>5</sup> Due campioni sono stati esclusi dall'analisi a causa di risultati finali non validi. Una lista di lavoro presentava poi 1 replicato in più di un componente del pannello con 25.000 fg GC rRNA/dosaggio. Nella stessa lista di lavoro mancava 1 replicato di un altro componente del pannello con 25.000 fg GC rRNA/dosaggio.

<sup>6</sup> In una lista di lavoro mancava 1 replicato di un componente del pannello con 250.000 fg/GC rRNA/dosaggio.

Nota: I campioni con risultati dell'analisi non validi sono stati esclusi. I campioni con risultati contraddittori sono stati inclusi nell'analisi della variabilità del segnale.

## **Prestazioni analitiche del Sistema Tigris DTS**

Vedere *Prestazioni analitiche del Sistema Panther* per le prestazioni analitiche specifiche del Sistema Panther.

### **Studio sull'equivalenza della sensibilità analitica**

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

### **Studio sul pannello clinico addizionato di GC rRNA**

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

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

La Tabella 14 mostra la concordanza percentuale con i risultati GC previsti per il Sistema Tigris DTS e i sistemi DTS per ciascun livello di rRNA nei pannelli di tampone endocervicale, tampone vaginale, tampone di uretra, urina maschile, urina femminile e campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt, rispettivamente. La concentrazione variava da 1 registro in meno a 3 registri in più rispetto al valore di 250 fg rRNA/dosaggio per GC. La Tabella 14 mostra anche le concordanze percentuali complessive dello studio sul pannello clinico tra il Sistema Tigris DTS e i sistemi DTS.

Tabella 14 Studio sulla concordanza del pannello clinico addizionato di GC rRNA

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

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

Tabella 14 Studio sulla concordanza del pannello clinico addizionato di GC rRNA (Continua)

| Campione                       | Componente del pannello | Concentrazione (fg rRNA/dosaggio) | Replicati | Tigris % concor. | DTS % concor. | Concordanza percentuale complessiva tra Tigris e DTS (I.C. del 95%) |
|--------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|-----------|------------------|---------------|---|
| Studio iniziale                | Nessun target           | 0                                 | 12        | 100              | 100           | 75,8 (67,5 - 82,8)  |
|                                | Molto basso             | 25                                | 30        | 13,3 (4/30)      | 100           |   |
|                                | Basso                   | 250                               | 30        | 80 (24/30)       | 100           |   |
|                                | Medio                   | 2.500                             | 30        | 100              | 100           |   |
|                                | Alto                    | 250.000                           | 30        | 100              | 100           |   |
| Urina femminile<br>Follow-up 1 | Nessun target           | 0                                 | 18        | 100              | 100           | 99,3 (96,0 - 100)   |
|                                | Molto basso             | 25                                | 30        | 96,7 (29/30)     | 100           |   |
|                                | Basso                   | 250                               | 30        | 100              | 100           |   |
|                                | Medio                   | 2.500                             | 30        | 100              | 100           |   |
|                                | Alto                    | 250.000                           | 30        | 100              | 100           |   |
| Follow-up 2                    | Nessun target           | 0                                 | 18        | 100              | 100           | 97,8 (93,8 - 99,5)  |
|                                | Molto basso             | 25                                | 30        | 90 (27/30)       | 100           |   |
|                                | Basso                   | 250                               | 30        | 100              | 100           |   |
|                                | Medio                   | 2.500                             | 30        | 100              | 100           |   |
|                                | Alto                    | 250.000                           | 30        | 100              | 100           |   |
| Pap liquido PreservCyt         | Nessun target           | 0                                 | 12        | 100              | 100           | 100 (97,2 - 100)  |
|                                | Molto basso             | 25                                | 30        | 100              | 100           |   |
|                                | Basso                   | 250                               | 30        | 100              | 100           |   |
|                                | Medio                   | 2.500                             | 30        | 100              | 100           |   |
|                                | Alto                    | 250.000                           | 30        | 100              | 100           |   |

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

## Studio sull'equivalenza della specificità analitica

Per un dosaggio di amplificazione dell'acido nucleico, la specificità analitica rispetto agli organismi individuali è largamente determinata dalla chimica del dosaggio (per es. le sequenze oligonucleotidiche) piuttosto che dalla piattaforma. Poiché i reagenti per il Dosaggio Aptima GC sono identici fra il Sistema Tigris DTS ed i sistemi DTS, gli esperimenti di specificità analitica sul Sistema Tigris DTS sono stati ideati per concentrarsi sugli isolati di coltura più problematici. Questi organismi includevano alcuni noti per la loro reattività incrociata in altri dosaggi di amplificazione. Ventiquattro (24) isolati di coltura sono stati selezionati dal pannello di organismi nella Tabella 11, tra cui 17 organismi più strettamente correlati alla GC. Tutti gli organismi analizzati hanno dato risultati negativi con l'eccezione di un risultato (1/648) falso positivo. La stessa situazione è stata osservata con *C. pneumoniae* dove 1 replicato sui 27 analizzati ha dato un risultato falso. La ripetizione dell'analisi non ha supportato la reattività incrociata con questo organismo (*C. pneumoniae*), dato che non è stata rilevata alcuna analisi positiva con 6 replicati aggiuntivi.

## Studio sull'equivalenza delle sostanze interferenti

Sangue intero, sostanza comunemente presente nei campioni urogenitali e nota come interferente in alcuni dosaggi di amplificazione, è stato usato per stabilire che il Sistema Tigris DTS tollera livelli simili di sostanze potenzialmente interferenti come avviene nei sistemi DTS. Sangue fresco è stato aggiunto a raggruppamenti clinici di campioni di tampone, tampone vaginale, urina, campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt e poi analizzato per la potenziale interferenza al dosaggio in assenza e in presenza di GC target all'equivalente stimato di rRNA pari a 50 CFU GC/dosaggio (250 fg/dosaggio). Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ciascun organismo. I campioni sono stati analizzati su due Sistemi Tigris DTS. Tutti i campioni contenenti acido nucleico target sono risultati positivi quando analizzati a un livello del 10% di sangue nei campioni di tampone, nei campioni di tampone vaginale e nei campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt, e del 30% di sangue nei campioni di urina. Tutti i campioni che non contenevano target sono risultati negativi per GC. Questi risultati indicano che, ai livelli analizzati, è improbabile che il sangue intero interferisca con i risultati per GC sul Sistema Tigris DTS.

## Studi sul carryover per il Sistema Tigris DTS

Per stabilire che il Sistema Tigris DTS riduce al minimo il rischio di risultati falsi positivi derivanti dalla contaminazione da carryover, è stato condotto uno studio analitico di più giorni usando pannelli arricchiti su tre Sistemi Tigris DTS. Lo studio ha impiegato un 20% di campioni GC ad alto target contenenti  $1,0 \times 10^9$  cellule/ reazione, che sono stati collocati a caso fra un 80% di campioni negativi contenenti mezzo di trasporto del tampone. Nel corso dello studio, 576 campioni ad alto target e 2.376 campioni negativi sono stati analizzati sui tre Sistemi Tigris DTS. La Tabella 15 mostra che il tasso di carryover complessivo era assestato mediamente attorno allo 0,21% (5/2.370). Un totale di 6 campioni negativi sono stati riportati come non validi e sono stati esclusi dal calcolo. Un'analisi separata è stata condotta su un sottogruppo della popolazione dello studio composta dai campioni negativi che seguivano immediatamente un positivo ad alto target. Il tasso di carryover per questo sottogruppo della popolazione era mediamente dello 0,95% (4/422). Per i falsi positivi in questo sottogruppo, il tasso di carryover variava dallo 0% al 2,16% su tutti e tre i Sistemi Tigris DTS. Questi risultati dimostrano che la contaminazione da carryover viene ridotta al minimo sul Sistema Tigris DTS.

Tabella 15 Riepilogo del carryover complessivo dei Sistemi Tigris DTS

| Strumento                  | N. analisi negative valide | N. totale risultati falsi positivi per GC | % risultati falsi positivi per GC | Intervallo di confidenza (I.C. del 95%) |
|----------------------------|----------------------------|---|-----------------------------------|---|
| Tigris 1                   | 787                        | 0 <sup>a</sup>                            | 0,00                              | 0,00 - 0,38                             |
| Tigris 2                   | 791                        | 1 <sup>b</sup>                            | 0,13                              | 0,00 - 0,70                             |
| Tigris 3                   | 792                        | 4 <sup>c</sup>                            | 0,51                              | 0,14 - 0,29                             |
| <b>Tutti gli strumenti</b> | 2.370                      | 5   | 0,21                              | 0,07 - 0,49                             |

a. Sistema Tigris DTS 1 non ha prodotto falsi positivi per GC subito dopo un risultato positivo ad alto target.

b. Sistema Tigris DTS 2 ha registrato un risultato falso positivo per GC subito dopo un risultato positivo ad alto target.

c. Sistema Tigris DTS 3 ha registrato tre falsi positivi per GC subito dopo un risultato positivo ad alto target.



## Prestazioni analitiche del Sistema Panther

### Studio sulla concordanza del pannello clinico arricchito

Singoli campioni negativi di urina sono stati addizionati di GC allo scopo di creare un pannello di 120 positivi per GC. I componenti del pannello GC positivi sono stati addizionati con organismi a 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL o 1.250 CFU/mL (25 fg/dosaggio, 250 fg/dosaggio o 2.500 fg/dosaggio). Sono stati inoltre raccolti 120 campioni di urina negativi per GC. I pannelli positivi e negativi sono stati analizzati su tre Sistemi Panther e su tre Sistemi Tigris DTS. La concordanza percentuale positiva tra i Sistemi Panther e i Sistemi Tigris DTS è risultata del 100% con un limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% di 98,9. La concordanza percentuale negativa tra i Sistemi Panther e i Sistemi Tigris DTS è risultata del 100% con un limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% di 98,9. I risultati dello studio sono illustrati nella Tabella 16.

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

| Componente del pannello | Concentrazione |             | Replicati | Tigris<br>% concordanza | Panther<br>% concordanza |
|-------------------------|----------------|-------------|-----------|-------------------------|--------------------------|
|                         | CFU/mL         | fg/dosaggio |           |                         |                          |
| Positivo molto basso    | 12,5           | 25          | 117       | 100                     | 100                      |
| Positivo basso          | 125            | 250         | 120       | 100                     | 100                      |
| Positivo medio          | 1.250          | 2.500       | 120       | 100                     | 100                      |
| Negativo                | 0              | 0           | 360       | 100                     | 100                      |

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

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

### Studio sulla sensibilità analitica

La sensibilità analitica del Dosaggio Aptima GC è stata analizzata usando tre matrici di campioni rappresentativi. I campioni in questione erano di urina trattata con Mezzo di trasporto dell'urina (UTM), soluzione PreservCyt per campioni Pap liquidi (liquidi Pap) diluita con mezzo di trasporto del tampone (STM) e STM. Raggruppamenti delle suddette tre matrici sono stati addizionati di GC rRNA alle seguenti concentrazioni: 25 fg/dosaggio, 250 fg/dosaggio e 2.500 fg/dosaggio (equivalenti di rRNA di 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL o 1.250 CFU/mL). Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ciascun organismo. I pannelli sono stati analizzati su tre strumenti Panther usando due lotti di reagenti in replicati di 96. È stata calcolata la concordanza positiva con i risultati previsti. La concordanza con i risultati previsti è risultata del 100% (I.C. del 95%, 96,2 - 100%) per tutti i pannelli di urina, del 100% (I.C. del 95%, 96,2 - 100%) per tutti i pannelli di campioni Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt e del 100% (I.C. del 95%, 96,1 - 100%) per tutti i pannelli di STM. La sensibilità analitica per il dosaggio è risultata di 125 CFU/mL.

## Studio sulla riproducibilità

La precisione del Dosaggio Aptima GC è stata valutata con tre Sistemi Panther e due lotti di kit di Dosaggio Aptima GC in un periodo di 24 giorni. I pannelli sono stati creati aggiungendo GC rRNA al mezzo di trasporto del tampone (STM) nelle concentrazioni elencate nella Tabella 17. Gli operatori hanno eseguito due sedute al giorno analizzando per ciascun componente di pannello due replicati per seduta. È stata calcolata la concordanza con i risultati previsti ed è stata stimata la precisione secondo le Linee guida NCCLS, documento EP5-A2 (15). Per ciascun pannello sono stati usati un totale di 96 replicati. La Tabella 17 presenta i dati RLU di precisione in termini di Media, Deviazione Standard, Coefficiente di Variazione (CV) e concordanza percentuale con i risultati previsti per i calcoli di variabilità fra diversi strumenti, fra diversi lotti, fra diverse sedute e nell'ambito di una stessa seduta.

Tabella 17 Precisione del Sistema Panther per il Dosaggio Aptima GC

| Matrice    | GC (CFU/mL) | N   | Media RLU (x1.000) | % Concor. | Tra strumenti diversi |        | Tra lotti diversi |        | Tra diverse sedute |        | Nella seduta |        | Totale      |        |
|------------|-------------|-----|--------------------|-----------|-----------------------|--------|-------------------|--------|--------------------|--------|--------------|--------|-------------|--------|
|            |             |     |                    |           | DS (x1.000)           | CV (%) | DS (x1.000)       | CV (%) | DS (x1.000)        | CV (%) | DS (x1.000)  | CV (%) | DS (x1.000) | CV (%) |
| STM        | 0           | 96  | 3                  | 100       | 0                     | 0      | 0                 | 0      | 0                  | 0      | 2,01         | 72,8   | 2           | 72,5   |
|            | 12,5        | 96  | 3.951              | 100       | 215,14                | 5,4    | 0                 | 0      | 0                  | 0      | 568,24       | 14,4   | 607,6       | 15,4   |
|            | 125         | 95* | 5.839              | 100       | 370,17                | 6,3    | 0                 | 0      | 0                  | 0      | 772,58       | 13,2   | 856,7       | 14,7   |
|            | 1.250       | 96  | 6.207              | 100       | 338,25                | 5,4    | 0                 | 0      | 0                  | 0      | 787,64       | 12,7   | 857,2       | 13,8   |
| Urina      | 0           | 95* | 3                  | 100       | 0,69                  | 21,6   | 0,81              | 25,5   | 0,77               | 24,2   | 2,43         | 76,3   | 2,8         | 87,8   |
|            | 12,5        | 96  | 3.460              | 100       | 0                     | 0      | 195,84            | 5,7    | 113,27             | 3,3    | 207,53       | 6      | 307         | 8,9    |
|            | 125         | 96  | 6.047              | 100       | 158,67                | 2,6    | 170,32            | 2,8    | 0                  | 0      | 206,24       | 3,4    | 311         | 5,1    |
|            | 1.250       | 96  | 6.737              | 100       | 218,35                | 3,2    | 238,49            | 3,5    | 66,22              | 1      | 176,72       | 2,6    | 374,4       | 5,6    |
| PreservCyt | 0           | 95* | 6                  | 100       | 1,9                   | 33,6   | 0                 | 0      | 0,54               | 9,5    | 5,96         | 105,2  | 6,3         | 111,2  |
|            | 12,5        | 96  | 3.358              | 100       | 257,9                 | 7,7    | 0                 | 0      | 0                  | 0      | 485,45       | 14,5   | 549,7       | 16,4   |
|            | 125         | 96  | 5.272              | 100       | 243,09                | 4,6    | 201,89            | 3,8    | 0                  | 0      | 751,72       | 14,3   | 815,4       | 15,5   |
|            | 1.250       | 96  | 5.945              | 100       | 355,95                | 6      | 51,06             | 0,9    | 0                  | 0      | 759,35       | 12,8   | 840,2       | 14,1   |

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

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

## Specificità analitica

Sugli strumenti Panther non è stata valutata la specificità analitica. *Prestazioni analitiche del Sistema Tigris DTS* per quanto concerne lo *Studio sull'equivalenza della specificità analitica*.

## Studio sull'equivalenza delle sostanze interferenti

Il sangue incontrato comunemente nei campioni urogenitali potrebbe interferire in alcuni dosaggi di amplificazione. Sangue intero è stato usato per stabilire il livello di interferenza del sangue sul Sistema Panther per quanto riguarda le potenziali sostanze interferenti. Sangue fresco è stato aggiunto ai raggruppamenti clinici di campioni di tampone vaginale, Pap liquidi (liquidi Pap) in soluzione PreservCyt post-trattamento o urina, e poi analizzato per la potenziale interferenza al dosaggio in presenza e in assenza di GC target. L'equivalente stimato di rRNA di 125 CFU GC/mL (250 fg/dosaggio) è stato usato come concentrazione target in quanto rappresentativa della sensibilità analitica del dosaggio. I campioni sono stati analizzati sul Sistema Panther. Tutti i campioni contenenti acido nucleico target sono risultati positivi quando analizzati ad un livello del 10% (vol/vol) di sangue nei campioni di tampone o Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt, e del 30% (vol/vol) di sangue nei campioni di

urina. Tutti i campioni che non contenevano target sono stati identificati correttamente come negativi. Questi risultati sono identici a quelli dimostrati per il Sistema Tigris DTS quando addizionati delle stesse quantità di sangue. Il sangue aggiunto ai campioni di tampone, Pap liquidi (liquid Pap) in soluzione PreservCyt e urina a livelli molto superiori a quelli che ci si potrebbe attendere con una normale raccolta di campioni non ha interferito con i risultati del Sistema Panther.

## Studi sul carryover per il Sistema Panther

Per stabilire che il Sistema Panther riduce al minimo il rischio di risultati falsi positivi derivanti dalla contaminazione da carryover, è stato condotto uno studio analitico di più sedute usando pannelli arricchiti su tre Sistemi Panther. Il carryover è stato valutato usando circa un 20% di campioni GC ad alto titolo frammisti a campioni negativi. Nelle sedute sono stati inclusi raggruppamenti di campioni altamente positivi e raggruppamenti di campioni negativi, come pure singoli campioni altamente positivi collocati secondo un pattern specifico nell'ambito della seduta. I campioni ad alto titolo sono stati creati addizionando GC rRNA al mezzo di trasporto del tampone (STM) allo scopo di ottenere una concentrazione finale di  $5 \times 10^5$  fg rRNA/reazione (equivalente di rRNA di  $2,5 \times 10^5$  CFU/mL). La valutazione è stata effettuata eseguendo 5 sedute su tre Sistemi Panther con un totale di 2.923 campioni negativi. Il tasso di carryover totale è risultato dello 0% con un intervallo di confidenza al 95% di 0 - 0,1%. Un totale di 17 campioni negativi provenienti dalle sedute ad alto titolo sono stati riportati come non validi e sono stati esclusi dal calcolo.

## Bibliografia

1. **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).
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
3. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. J. Clin. Microbiol. **33**:3111-3114.
4. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrick, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen Processing and Concentration of *Chlamydia trachomatis* Added Can Influence False-Negative Rates in the LCx Assay but Not in the Aptima Combo 2 Assay When Testing for Inhibitors. J. Clin. Microbiol. **41**:778-782.
5. **CUMITECH 31.** Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory.- ASM PRESS, FEBRUARY 1997.
6. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. **37**:386-390.
7. **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.
8. **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.
9. **Hook III, E. W. and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal Infections in the Adult. p. 458. In K. Holmes et. al. (eds.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, N.Y.
10. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. J. Clin. Microbiol. **4**:288-295.
11. **Masi, A. T., and B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. Semin. Arthritis Rheum. **10**:173.
12. **McCurdy, Brenda W.** 1997. Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory. February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
13. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
14. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. NCCLS EP12-A. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline for additional guidance on appropriate internal quality control testing practices.
15. **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).

16. **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.
17. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 4<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
18. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. Chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
19. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
20. **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.
21. **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.
22. **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.
23. **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.
24. **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.* **37**:74-80.



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



**Hologic BVBA**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium



Assistenza clienti: +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com

Assistenza tecnica: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Per ulteriori informazioni di contatto visitare il sito [www.hologic.com](http://www.hologic.com).

Hologic, Aptima, Aptima e il suo design, Aptima Combo 2, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep, Tigris, e TMA sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri paesi

eppendorf (stilizzato) e REPEATER sono marchi commerciali di Eppendorf AG.

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

RAININ è un marchio commerciale di Rainin Instrument, LLC.

TECAN e FREEDOM EVO sono marchi commerciali della Tecan Group AG.

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

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti statunitensi identificati nel sito [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2003–2019 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

502185IT Rev. 007  
2019-10