

## Test Aptima™ *Neisseria gonorrhoeae*

Do diagnostyki *in vitro*.

Tylko na eksport poza USA.

<b>Informacje ogólne</b>	<b>2</b>
Przeznaczenie	2
Podsumowanie i objaśnienie testu	2
Zasady procedury	3
Ostrzeżenia i środki ostrożności	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi	6
Pobieranie i przechowywanie próbek	7
<b>Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent</b>	<b>37</b>
<b>Ograniczenia</b>	<b>40</b>
<b>Wyniki badania klinicznego</b>	<b>42</b>
<b>Wartości oczekiwane w systemie DTS</b>	<b>43</b>
<b>Skuteczność kliniczna systemu DTS</b>	<b>46</b>
<b>Zgodność próbek klinicznych systemu Tigris DTS</b>	<b>63</b>
<b>Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS</b>	<b>66</b>
<b>Skuteczność analityczna Panther System</b>	<b>70</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>72</b>

### Systemy DTS

<b>Systemy DTS</b>	<b>10</b>
Dostarczone odczynniki i materiały	10
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	11
Materiały opcjonalne	13
<b>Procedura testu w systemach DTS</b>	<b>13</b>
Uwagi dotyczące procedury	19

### Tigris DTS

<b>System Tigris DTS</b>	<b>23</b>
Dostarczone odczynniki i materiały	23
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	25
Materiały opcjonalne	26
<b>Procedura testu w systemie Tigris DTS</b>	<b>26</b>
Uwagi dotyczące procedury	29

### Panther

<b>Panther System</b>	<b>30</b>
Dostarczone odczynniki i materiały	30
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	31
Materiały opcjonalne	32
<b>Procedura testu w Panther System</b>	<b>32</b>
Uwagi dotyczące procedury	35

## Informacje ogólne

### Przeznaczenie

Test Aptima™ *Neisseria gonorrhoeae* to test z sondą kwasu nukleinowego z amplifikacją cząsteczek szukanych, który wykorzystuje wychwytywanie cząsteczek szukanych do jakościowego wykrywania rybosomalnego RNA (rRNA) *Neisseria gonorrhoeae* (GC) *in vitro* w celu wspomagania diagnostyki gonokokowych chorób układu moczowo-płciowego przy użyciu systemu Tigris™ DTS™ lub Panther™ System lub przy użyciu półautomatycznego oprzyrządowania systemów DTS, zgodnie z opisem. Test może być stosowany do badania następujących próbek pobranych od osób z objawami: pobrane przez lekarza próbki wymazu z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej oraz próbki moczu kobiet i mężczyzn. Test może być stosowany do badania następujących próbek pobranych od osób bez objawów: pobrane przez lekarza próbki wymazu z kanału szyjki macicy i pochwy oraz pobrane przez pacjentki próbki wymazu z pochwy<sup>1</sup>; oraz próbki moczu kobiet i mężczyzn. Ten test jest również przeznaczony do stosowania w badaniach próbek ginekologicznych, zarówno od pacjentów z objawami, jak i bezobjawowych. Próbki z kanału szyjki macicy pobrane do fiolek z roztworem PreservCyt™ mogą być badane zarówno przed, jak i po wykonaniu Pap. Badanie próbek przetworzonych po wykonaniu Pap jest ograniczone tylko do próbek przetworzonych przy użyciu Systemu ThinPrep™ 2000.

<sup>1</sup>Próbki wymazu z pochwy pobrane przez pacjentki są opcją dla badań przesiewowych kobiet, gdy nie ma innych wskazań do badania miednicy. Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest nie jest przeznaczony do użytku domowego.

### Podsumowanie i objaśnienie testu

Zakażenia *Neisseria gonorrhoeae* są jednym z najczęstszych zakażeń przenoszonych drogą płciową na świecie. W samych Stanach Zjednoczonych w 2010 roku do Centrów Kontroli Chorób zgłoszono szacunkowo 309 341 (100,8 przypadków na 100 000 populacji) nowych przypadków zakażeń GC (2).

*N. gonorrhoeae* jest czynnikiem wywołującym rzeżączkę. *Neisseria* są nieruchliwymi, gram-ujemnymi dwóinkami. Większość zakażeń rzeżączką to niepowikłane infekcje dolnych dróg płciowych, które mogą przebiegać bezobjawowo. Jednakże, jeśli nie są leczone u kobiet, infekcje mogą się rozprzestrzeniać i powodować zapalenie narządów miednicy mniejszej (PID). PID może objawiać się jako zapalenie błony śluzowej macicy, zapalenie jajowodu, zapalenie otrzewnej miednicy i ropień jajowodowo-jajnikowy. U mniejszego odsetka osób z zakażeniem gonokokowym może rozwinąć się rozsiane zakażenie gonokokowe (DGI) (8, 11).

Konwencjonalne rozpoznanie zakażenia GC wymaga izolacji mikroorganizmu na podłożach selektywnych lub obserwacji dwoinek w rozmazach barwionych metodą Grama (9). Metody hodowli mogą charakteryzować się dobrą czułością kliniczną, ale są w dużym stopniu uzależnione od właściwego postępowania z próbkami. Niewłaściwe przechowywanie i transport próbek może spowodować utratę żywotności mikroorganizmów i dać wyniki fałszywie ujemne. Ponadto, zła technika pobierania próbek, toksyczne materiały do pobierania próbek oraz inhibicja wzrostu przez składniki wydzieliny ciała mogą również powodować wyniki fałszywie ujemne (3, 10). Powszechnie stosowane metody wykrywania GC bez użycia hodowli obejmują testy z bezpośrednim sondowaniem DNA oraz testy amplifikacji kwasu nukleinowego (NAAT).

W przypadku NAAT pierwszej generacji do wykrywania GC występują problemy technologiczne, które ograniczały ich działanie. Problemy te obejmują uciążliwe przetwarzanie próbek oraz inhibicję próbek, co może prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych (6). Test Aptima *Neisseria gonorrhoeae* (Test Aptima GC) jest testem NAAT drugiej generacji, który

wykorzystuje technologie wychwytywania cząsteczek szukanych, amplifikacji z mediacją transkrypcji (TMA™) oraz testu ochrony hybrydyzacji (test HPA) w celu usprawnienia procesu przetwarzania próbek, amplifikacji docelowego rRNA oraz wykrywania amplikonu. Badania porównujące skuteczność i inhibicję próbki różnych systemów amplifikacji wykazały zalety wychwytywania cząsteczek szukanych, TMA i HPA (4, 7).

Według wytycznych dotyczących badań przesiewowych *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* z 2002 roku, CDC zaleca kilka opcji dla kontynuacji działań po dodatnim teście przesiewowym „jeśli można oczekiwać niskiej dodatniej wartości predykcyjnej lub jeśli fałszywie dodatni wynik miałby poważne konsekwencje psychospołeczne lub prawne” (1). Jedną z tych opcji dodatkowego testowania może być inny test amplifikacji kwasu nukleinowego, zatwierdzony przez FDA, wykorzystujący inne cząsteczki szukane niż test początkowy. Test Aptima GC oraz test Aptima Combo 2™ wyszukują podjednostkę rRNA 16S w celu wychwytywania i wykrywania. Sonda wychwytyjąca jest taka sama dla obu testów, ale test Aptima GC rozpoznaje inny region podjednostki rRNA 16S niż test Aptima Combo 2 w celu wykrywania.

## Zasady procedury

Test Aptima GC łączy w sobie technologie wychwytywania cząsteczek szukanych, TMA i HPA.

Próbki są pobierane i przenoszone do odpowiednich probówek przeznaczonych do ich transportu. Roztwór transportowy w tych probówkach uwalnia szukane rRNA i chroni je przed degradacją podczas przechowywania. Jeśli test Aptima GC jest wykonywany w warunkach laboratoryjnych, szukana cząsteczka rRNA jest izolowana z próbek przy użyciu oligomeru wychwytyjącego drogą wychwytywania celu poprzez wykorzystanie mikrocząsteczek magnetycznych. Oligomer wychwytyjący zawiera sekwencję komplementarną do określonego regionu cząsteczek szukanych, a także ciąg reszt deoksyadenozyny. Podczas etapu hybrydyzacji region specyficzny dla sekwencji oligomeru wychwytyjącego wiąże się z określonymi regionami cząsteczek szukanych. Następnie kompleks oligomer odpowiedzialny za wychwyt:cząsteczka szukana jest wychwytywany z roztworu dzięki obniżeniu temperatury reakcji do temperatury pokojowej. Ten spadek temperatury umożliwia hybrydyzację między obszarem deoksyadenozyny oligomeru odpowiedzialnego za wychwyt i cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząsteczkami magnetycznymi. Mikrocząsteczki, w tym wychwycona cząsteczka szukana z nimi związana, są odciągane do brzegu naczynia reakcyjnego za pomocą magnesów, a następnie odsysany jest supernatant. Cząsteczki są przemywane w celu usunięcia pozostałości matrycy próbki, która może zawierać inhibitory reakcji amplifikacji. Po zakończeniu etapów wychwytywania cząsteczek szukanych, próbki są gotowe do amplifikacji.

Testy amplifikacji cząsteczek szukanych są oparte na zdolności komplementarnych starterów oligonukleotydowych do swoistej hybrydyzacji i umożliwiają enzymatyczną amplifikację szukanych nici kwasu nukleinowego. Reakcja Hologic® TMA replikuje specyficzny region rRNA 16S z GC poprzez półprodukt DNA. Dla cząsteczki szukanej stosowany jest unikalny zestaw starterów. Wykrywanie sekwencji produktu amplifikacji rRNA (amplikonu) uzyskuje się za pomocą hybrydyzacji kwasów nukleinowych. Jednoniciowa chemiluminescencyjna sonda DNA, która jest komplementarna do regionu szukanego amplikonu, jest znakowana cząsteczką estru akrydyny. Znakowana sonda DNA łączy się z amplikonem tworząc stabilne hybrydy RNA:DNA. Odczynnik selekcyjny odróżnia sondę zhybrydowaną od niezhybrydowanej, eliminując generowanie sygnału z tej drugiej. Podczas etapu wykrywania światło emitowane przez znakowane hybrydy RNA:DNA jest mierzone jako sygnały fotonów w luminometrze i podawane jako względne jednostki światła (RLU).

**Ostrzeżenia i środki ostrożności**

- A. Do diagnostyki *in vitro*.
- B. Do użycia przez profesjonalistów.
- C. W celu uzyskania dodatkowych szczegółowych ostrzeżeń, środków ostrożności i procedur kontroli kontaminacji dla systemu Tigris DTS™, należy zapoznać się z *Instrukcją obsługi Tigris DTS System*.
- D. W celu uzyskania dodatkowych szczegółowych ostrzeżeń, środków ostrożności i procedur kontroli kontaminacji dla systemu Panther System, należy zapoznać się z *Instrukcją obsługi Panther System*.

**Kwestie związane z laboratorium**

- E. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- F. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
- G. **Ostrzeżenie: Środki drażniące i żrące.** Unikać kontaktu produktów Auto Detect 1 i Auto Detect 2 ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeśli płyny zetkną się ze skórą lub oczami, należy przemyć wodą. W przypadku rozlania tych płynów należy rozcieńczyć je wodą przed wytarciem powierzchni do sucha.
- H. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M).

*Szczególnie dla systemu DTS*

- I. Zalecane jest przeznaczenie odrębnego obszaru na HPA w celu zminimalizowania kontaminacji próbek amplikonem. Ten odrębny obszar powinien znajdować się z dala od obszarów przygotowywania odczynników, wychwytywania cząsteczek szukanych oraz amplifikacji.
- J. W celu uniknięcia zanieczyszczeń obszarów laboratoryjnych amplikonem obszar laboratoryjny powinien być zorganizowany w taki sposób, aby przepływ pracy – od przygotowania próbki do HPA – był jednokierunkowy. Próbki, wyposażenie i odczynniki nie powinny być zwracane do obszaru, w którym był wykonywany poprzedni etap. Ponadto, personel nie powinien przechodzić do obszarów roboczych, w których były wykonywane poprzednie czynności bez zachowania odpowiednich środków zapobiegających kontaminacji.

**Kwestie dotyczące próbek**

- K. Test został przetestowany z użyciem próbek wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej, płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt, próbek wymazów z pochwy oraz próbek moczu kobiet i mężczyzn. Nie określono skuteczności wyników dla próbek innych niż wymienione w punkcie Pobieranie i przechowywanie próbek. Laboratoria mogą zatwierdzić inne urządzenia do pobierania próbek (12, 14).

- L. Daty ważności wymienione na zestawach do pobierania próbek obowiązują ośrodek, w którym pobierana jest próbka, a nie placówkę, w której wykonywane są badania. Próbki zebrane w dowolnym czasie przed upływem daty ważności zestawu do pobierania próbek mogą być badane, o ile były transportowane i przechowywane zgodnie z ulotką załączoną do opakowania, nawet jeżeli minęła data ważności próbki do pobierania próbek.
- M. Roztwór PreservCyt został zatwierdzony jako alternatywne podłoże do badań z użyciem testu Aptima GC. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt przetwarzane przy użyciu urządzenia ThinPrep 3000 lub innych urządzeń nie były badane w kierunku obecności *Neisseria gonorrhoeae* przy użyciu testu Aptima GC.
- N. Po dodaniu moczu do próbki do transportowania moczu poziom płynu musi wypadać między dwoma czarnymi wskaźnikami na etykiecie próbki. W przeciwnym razie należy odrzucić próbkę.
- O. W trakcie transportu próbek zapewnić prawidłowe warunki przechowywania, pozwoli to zachować ich prawidłowy stan. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- P. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności. Właściwe metody postępowania z próbkami oraz utylizacji próbek powinien określić kierownik laboratorium. Do wykonywania tej procedury diagnostycznej powinien być upoważniony wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w obchodzeniu się z materiałami zakaźnymi.
- Q. W czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie mikroorganizmów. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie miały ze sobą styczności, i utylizować zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.
- R. Jeżeli w próbce transportowej z wymazem nie będzie wymazu, będą dwa wymazy, wacik do czyszczenia albo wymazówka firmy innej niż Hologic, próbkę należy odrzucić. Przed odrzuceniem próbki transportowej bez wymazu należy sprawdzić, czy nie jest to próbka do przenoszenia próbek firmy Aptima, ponieważ nie będzie ona zawierać wymazówki.
- S. W przypadku płynnych próbek Pap w PreservCyt należy pobierać próbki zgodnie z instrukcjami producenta. Porcje pobrane z fiolki z roztworem PreservCyt do badania testem Aptima GC powinny być przetwarzane wyłącznie przy użyciu zestawu do przenoszenia próbek Aptima.
- T. W pewnych warunkach po przekłuciu spod zakrętek próbek transportowych Aptima może uwolnić się płyn. Aby temu zapobiec, należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w odpowiedniej *Procedurze testu*.

### Kwestie dotyczące testu

- U. Skuteczności wyników dla próbek wymazu z pochwy nie ustalono u kobiet w ciąży.
- V. Wyniki badania próbek wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i cewki moczowej mężczyzn, próbek moczu mężczyzn i kobiet oraz płynnych próbek Pap w PreservCyt nie zostały ocenione u młodzieży w wieku poniżej 16 lat.
- W. Nie należy używać zestawu po upływie terminu ważności.

- X. Nie wymieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych pochodzących z zestawów o różnych numerach serii. Kontrole i płyny do testów firmy Aptima mogą mieć różne numery partii.

*Szczególnie dla systemu DTS*

- Y. Należy używać końcówek z hydrofobowymi korkami. Do użytku z tym testem należy przeznaczyć co najmniej dwa pipetory powtarzalne: jeden do stosowania w etapach wychwytywania cząsteczek szukanych i amplifikacji i jeden do stosowania w etapach HPA. Do użycia w tym badaniu należy przeznaczyć dwa mikropipetory: jeden do przenoszenia próbek i jeden do przygotowywania odczynników. Wszystkie pipetory należy regularnie czyścić, zgodnie z opisem w sekcji *Procedura testu w systemach DTS, Uwagi dotyczące procedury*.
- Z. W przypadku używania pipetorów powtarzalnych do dodawania odczynnika nie należy dotykać probówki końcówką pipety, aby zapobiec przenoszeniu materiału z jednej probówki do drugiej.
- AA. Do uzyskania dokładnych wyników testu niezbędne jest dokładne wymieszanie próbek. Szczegółowe informacje zawiera sekcja *Procedura testu w systemach DTS, Uwagi dotyczące procedury*.
- AB. Dla etapów wykonywanych przy wychwytywaniu cząsteczek szukanych, podczas amplifikacji i HPA w teście należy przeznaczyć odrębne łaźnie wodne.
- AC. Odtwarzalność testu została ustalona przy użyciu podłoża transportowego do wymazów z domieszką rRNA. Odtwarzalność podczas badania próbek wymazu i moczu zawierających mikroorganizm szukany nie została określona.
- AD. Karty uszczelniające należy wyrzucić do pojemnika na odpady natychmiast po wyjęciu ich z probówek reakcyjnych. Należy zawsze używać świeżych kart uszczelniających: nigdy nie należy używać kart z poprzedniego etapu. Karty uszczelniające należy mocno przymocować do górnej części wszystkich probówek reakcyjnych.

**Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi**

- A. Następujące odczynniki są stabilne, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C (w lodówce):
- Odczynnik amplifikacji GC Aptima
  - Odczynnik enzymatyczny Aptima
  - Odczynnik-sonda GC Aptima
  - Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B Aptima
  - Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT Aptima
  - Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC Aptima
- B. Poniższe odczynniki są stabilne, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C:
- Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji GC Aptima
  - Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych Aptima
  - Roztwór do przygotowania odczynników-sond GC Aptima
  - Odczynnik selekcyjny Aptima

- C. Następujące odczynniki są stabilne, jeśli są przechowywane w temperaturze od 15°C do 30°C (temperatura pokojowa):
- Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych GC Aptima
  - Roztwór do płukania Aptima
  - Bufor do płynu dezaktywującego Aptima
  - Odczynnik olejowy Aptima
- D. Odczynnik wTCR GC jest stabilny przez 60 dni, jeśli jest przechowywany w temperaturze od 15°C do 30°C. Nie należy przechowywać go w lodówce.
- E. Po przygotowaniu odczynnik enzymatyczny, odczynnik amplifikacji GC i odczynnik-sonda są stabilne przez 60 dni, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C.
- F. Niewykorzystane przygotowane odczynniki oraz odczynnik wTCR wyrzucić po 60 dniach lub po upływie daty ważności partii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- G. Kontrole są stabilne do momentu upłynięcia daty wskazanej na fiolkach.
- H. Odczynniki z butelek na 100 testów przechowywane w systemie Tigris DTS mają 96 godzin stabilności.
- I. Odczynniki przechowywane w Panther System zachowują stabilność przez 72 godziny
- J. Odczynnik-sonda GC oraz przygotowany odczynnik-sonda GC są wrażliwe na światło. Przechowywane odczynniki należy chronić przed ekspozycją na światło.
- K. Po ogrzaniu do temperatury pokojowej, niektóre próbki z kontrolą mogą wydawać się mętne lub zawierać osady. Zjawiska mętności lub osadu związane z kontrolami nie mają wpływu na ich działanie. Kontrole można stosować bez względu na to, czy są klarowne, czy mętne/wytrącone. Jeśli pożądane są kontrole klarowne, solubilizację można przyspieszyć, inkubując je w górnej granicy zakresu temperatury pokojowej (od 15°C do 30°C).
- L. **Nie zamrażać odczynników.**

## Pobieranie i przechowywanie próbek

Test Aptima GC jest przeznaczony do wykrywania obecności GC w pobranych przez lekarza próbkach wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej, w próbkach wymazów z pochwy pobranych przez pacjentkę, w próbkach moczu kobiet i mężczyzn oraz w próbkach płynnych Pap w roztworze PreservCyt. Skuteczność wyników dla próbek innych niż pobrane za pomocą poniższych zestawów do pobierania próbek nie została ustalona:

- Zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex
- Zestaw do pobierania próbek moczu Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn
- Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest
- Zestaw do transportu próbek Aptima (do stosowania z próbkami ginekologicznymi pobranymi w roztworze PreservCyt)

### A. Instrukcja pobierania:

Instrukcje pobierania przedstawiono w odpowiedniej ulotce załączonej do opakowania zestawu do pobierania próbek.

**B. Transport i przechowywanie próbek przed wykonaniem testów:****1. Próbki wymazów:**

- a. Po pobraniu należy transportować i przechowywać wymaz w probówce do transportu próbek wymazów w temperaturze od 2°C do 30°C do momentu wykonania badania. Próbki należy zbadać testem Aptima GC w ciągu 60 dni od pobrania. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, zamrozić w temperaturze od -20°C do -70°C na okres do 12 miesięcy od pobrania (patrz *Badania stabilności próbek*).

**2. Próbki moczu:**

- a. Próbki moczu, które nadal znajdują się w pierwotnym pojemniku do pobierania należy transportować do laboratorium w temperaturze od 2°C do 30°C. Przenieść próbkę moczu do próbki transportowej Aptima w ciągu 24 godzin od pobrania. Przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C i zbadać w ciągu 30 dni od pobrania.
- b. Po pobraniu transportować przetworzone próbki moczu w probówce transportowej do próbek moczu Aptima w temperaturze od 2°C do 30°C i przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C do czasu wykonania badania. Przetworzone próbki moczu należy zbadać testem Aptima GC w ciągu 30 dni od pobrania. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, zamrozić w temperaturze od -20°C do -70°C na okres do 12 miesięcy od pobrania (patrz *Badania stabilności próbek*).

**3. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt:**

- a. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt przeznaczone do badania na GC muszą być przetworzone do badań cytologicznych i/lub przeniesione do próbki do przenoszenia próbek Aptima w ciągu 30 dni od pobrania, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C (patrz *Badania stabilności próbek*).
- b. Jeżeli będzie stosowana procedura Wyjmowania Porcji ThinPrep, należy zapoznać się z instrukcjami dotyczącymi wyjmowania porcji w *Instrukcji obsługi urządzenia ThinPrep 2000 lub ThinPrep 3000*. Przenieść 1 mL wyjętej porcji do próbki do przenoszenia próbek Aptima zgodnie z instrukcją zamieszczoną w ulotce dołączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima.
- c. W przypadku badania próbki po przetworzeniu przy użyciu urządzenia ThinPrep 2000 należy przetworzyć płynną próbkę Pap w roztworze PreservCyt zgodnie z *Instrukcją obsługi urządzenia ThinPrep 2000* i ulotką dołączoną do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima. Przenieść 1 mL płynu pozostałego we fiolce z roztworem PreservCyt do próbki do przenoszenia próbek Aptima zgodnie z instrukcją zamieszczoną w ulotce dołączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima.
- d. Po przeniesieniu płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt do próbki do przenoszenia próbek Aptima, próbka musi zostać zbadana testem Aptima GC w ciągu 30 dni w przypadku przechowywania w temperaturze od 2°C do 8°C lub 14 dni w przypadku przechowywania w temperaturze od 15°C do 30°C. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, należy zamrozić próbkę w temperaturze od -20°C do -70°C na okres do 12 miesięcy od momentu przeniesienia (patrz *Badania stabilności próbek*).

**C. Przechowywanie próbek po teście:**

1. Próbki, które były już badane, należy przechowywać pionowo w statywie.
2. Probówki transportowe na próbki należy przykryć nowym, czystym parafilmem albo folią ochronną.



3. Jeżeli badane próbki należy zamrozić albo wysłać, zdjąć przepuszczalne zakrętki i nałożyć nowe nieprzepuszczalne zakrętki na wszystkie probówki transportowe na próbki. Jeżeli konieczne jest wysłanie próbek do badania do innej placówki, należy zawsze przestrzegać zalecanych temperatur. Przed zdjęciem zakrętek z wcześniej badanych próbek, na które nałożono nowe zakrętki, probówki transportowe na próbki należy wirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa), aby całość płynu znalazła się na dnie probówki. **Unikać rozpryskiwania i zanieczyszczenia krzyżowego.**

**Uwaga:** *Próbki należy przesyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi i międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu.*

## Systemy DTS

Poniżej wymieniono odczynniki potrzebne do wykonania testu Aptima GC w systemie DTS. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

### Dostarczone odczynniki i materiały

**Uwaga:** Informacje dotyczące zwrotów wskazujących zagrożenia i środki ostrożności, które mogą się wiązać z odczynnikiem, przedstawiono w bibliotece kart charakterystyki produktów na stronie [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Zestaw testów Aptima Neisseria gonorrhoeae**, 100 testów (2 opakowania) (kat. nr 301091)

**Skrzynia chłodnicza na testy Aptima Neisseria gonorrhoeae (Skrzynia 1 z 2)**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	<b>Odczynnik amplifikacji GC Aptima</b> <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
E	<b>Odczynnik enzymatyczny Aptima</b> <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym &lt; 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
P	<b>Odczynnik-sonda GC Aptima</b> <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	1 fiolka
TCR-B	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B Aptima</b> <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	1 x 0,35 mL
PGC/NCT	<b>Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT Aptima</b> <i>Niezakaźny kwas nukleinowy GC w buforowanym roztworze zawierającym &lt; 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA 50 komórek GC (250 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL
PCT/NGC	<b>Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC Aptima</b> <i>Niezakaźny kwas nukleinowy CT w buforowanym roztworze zawierającym &lt; 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA dla 1 CT IFU (5 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL

\*Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu.

W skrzyni chłodniczej znajdują się również następujące elementy (taca do przechowywania):  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
AR	<b>Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji GC Aptima</b> <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 x 9,3 mL
ER	<b>Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych Aptima</b> <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 3,3 mL
PR	<b>Roztwór do przygotowania odczynników-sond GC Aptima</b> <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	1 x 12,4 mL
S	<b>Odczynnik selekcyjny Aptima</b> <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 x 31 mL
	<b>Kołnierze do przygotowania odczynników</b>	3
	<b>Karty uszczelniające</b>	1 opakowanie

Skrzynia do przechowywania w temperaturze pokojowej na testy Aptima Neisseria gonorrhoeae (Skrzynia 2 z 2)  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
TCR	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych GC Aptima</b> <i>Buforowany roztwór soli zawierający fazę stałą i oligomery wychwytywające.</i>	1 x 22 mL
W	<b>Roztwór do płukania Aptima</b> <i>10 mM roztworu buforowanego HEPES zawierającego &lt; 2% detergentu.</i>	1 x 402 mL
DF	<b>Bufor do płynu dezaktywującego Aptima</b> <i>800 mM roztworu buforowanego wodorowęglanem.</i>	1 x 402 mL
O	<b>Odczynnik olejowy Aptima</b> <i>Olej silikonowy.</i>	1 x 24,6 mL

### Materiały wymagane, ale dostępne osobno

**Uwaga:** Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.

	<u>Kat. Nr</u>
Leader HC+ Luminometer	104747-01
System do wychwytywania cząsteczek szukanych (TCS) firmy Hologic	104555

	<u>Kat. Nr</u>
Inkubatory i wytrząsarki:	
2 wytrząsarki na wiele próbek	102160G
3 łaźnie z obiegiem wody (62°C ± 1°C, 42°C ± 1°C, 62°C ± 1°C)	104586
3 separatory do łaźni wodnych	104627
LUB	
2 produkty typu łaźnia z suchym ciepłem / wytrząsarka SB100	105524
Wraz ze wzrostem objętości testu może być wymagana dodatkowa łaźnia SB100	
Zestaw Aptima Auto Detect	301048
2 pipetory Eppendorf Repeater Plus	105725
2 pipetory, 1000 µL RAININ PR1000	901715
Pipetor Eppendorf, 20 µL do 200 µL	105726
Końcówki pipetora powtarzalnego, 2,5 mL	21-381-329
Końcówki pipetora powtarzalnego, 5,0 mL	21-381-330
Końcówki pipetora powtarzalnego, 25,0 mL	21-381-115
Końcówki, styl P1000	105049
<i>końcówka o specjalnej średnicy dostępna tylko w firmie Hologic</i>	
Końcówki pipety 20 µL do 200 µL	705512 (Fisher)
Zestawy dziesięcioprobówkowe (Ten Tube Units, TTU)	TU0022
Kasety dziesięciokońcówkowe (Ten Tip Cassettes, TTC)	104578
Zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex	301041
Zestaw do pobierania próbek moczu Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	301040
Probówki transportowe Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	105575
Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest	PRD-03546
Zestaw do transportu próbek Aptima	301154C
Zestaw do transportu próbek Aptima – drukowalny	PRD-05110
Wzorzec kalibracji SysCheck	301078
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M)	—
Standardowe pojemniki do pobierania moczu, bez konserwantów	—
Pojemnik z tworzywa sztucznego z dużą zakrętką	—
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A

## Materiały opcjonalne

	<u>Kat. Nr</u>
Zestaw kontroli Aptima	301110
Płyny do testu Aptima	302002C
<i>Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima, odczynnik olejowy Aptima</i>	
Wzmacniacz wybielacza do czyszczenia Hologic <i>do rutynowego czyszczenia powierzchni i sprzętu</i>	302101
Panel skuteczności STD	102325
Końcówki przewodzące 1000 µL, wykrywające ciecz	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4 zawierający	900932
<i>Blaszkę roboczą do testu Aptima Combo 2 w Systemie DTS 800</i>	<i>105200</i>
<i>Zbiornik na odczynniki (moduł ćwiartkowy 40 mL)</i>	<i>104765</i>
<i>Podzielony zbiornik na odczynniki (19 mL x 2 moduły ćwiartkowe)</i>	<i>104763</i>

## Procedura testu w systemach DTS

## A. Przygotowanie sprzętu

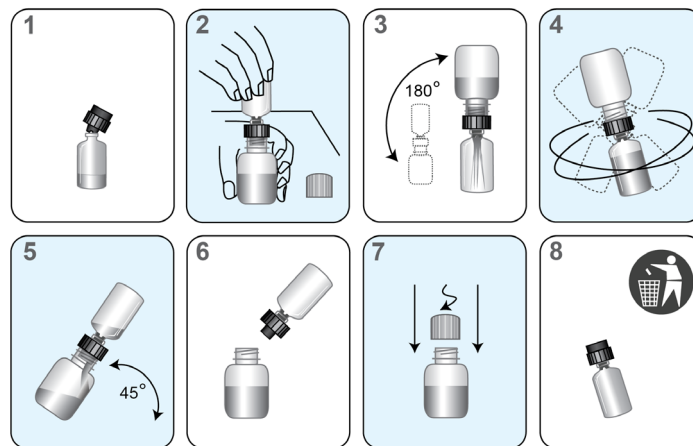
1. Nastawić jedną łaźnię wodną na temperaturę 62°C ± 1°C (w celu wychwytywania cząsteczek szukanych oraz wiązania starterów), drugą łaźnię wodną na temperaturę 42°C ± 1°C (w celu przeprowadzenia amplifikacji) oraz trzecią łaźnię wodną na temperaturę 62°C ± 1°C (w celu wykonywania HPA). W przypadku używania aparatu SB100™ Dry Heat Bath/Vortexer należy zapoznać się z dokumentem *Karta zastosowania SB100 Dry Heat Bath/Vortexer (Karta zastosowania SB100)*.
2. Przed rozpoczęciem testu przetrzeć powierzchnie robocze i pipetory roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien oddziaływać na powierzchnie robocze i pipetory przez co najmniej 1 minutę, następnie należy spłukać go wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię stołu, na którym będzie przygotowane badanie, czystymi, wzmocnionymi tworzywem sztucznym, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
3. Umieścić wystarczającą ilość Kaset dziesięciokońcówkowych w systemie do wychwytywania cząsteczek szukanych (TCS). Upewnić się, że butelka do płukania TCS jest wypełniona roztworem do płukania Aptima, a głowica aspiracyjna jest podłączona do pompy próżniowej. (Patrz *Instrukcja obsługi systemu do wychwytywania cząsteczek szukanych*.)

## B. Przygotowanie odczynników

**Uwaga:** Odczynnik należy przygotować przed rozpoczęciem przenoszenia próbki.

1. Aby przygotować odczynniki amplifikacji GC, odczynniki enzymatyczne i odczynniki-sondy GC, należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynnikiami z zawartością butelek z roztworami do przygotowania. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodziarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do przygotowania odczynników osiągną temperaturę pokojową.
  - a. Dopasować odpowiedni roztwór do przygotowania do każdego liofilizowanego odczynnika. Etykiety są oznaczone kolorami, dzięki czemu można je prawidłowo sparować.

- b. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno włożyć nacięty koniec kołnierza do przygotowania odczynników do otworu fiolki (Rysunek 1, etap 1).
- c. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
- d. Trzymając butelkę z roztworem do przygotowania odczynników na stole, mocno włożyć drugi koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór butelki (Rysunek 1, etap 2).
- e. Powoli odwrócić połączone buteleczkę i fiolkę. Pozwolić, aby roztwór spłynął z butelki do fiolki (Rysunek 1, etap 3).
- f. Delikatnie zataczać fiolką koła w powietrzu, aby wymieszać jej zawartość. Nie dopuszczać do wytwarzania piany podczas mieszania zawartości fiolki ruchem wirowym (Rysunek 1, etap 4).
- g. Poczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, a następnie ponownie odwrócić połączone buteleczkę i fiolkę, przechylając pod kątem 45°, aby zminimalizować powstawanie piany (Rysunek 1, etap 5). Poczekać, aż płyn ponownie spłynie do buteleczki.
- h. Usunąć kołnierz do przygotowania odczynników z buteleczki (Rysunek 1, etap 6).
- i. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę. Zapisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników na etykiecie (Rysunek 1, etap 7).
- j. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i fiolkę (Rysunek 1, etap 8).



**Rysunek 1. Proces przygotowania odczynników w systemie DTS**

2. Przed rozpoczęciem testu uprzednio przygotowane odczynniki zawierające sondy GC, odczynniki amplifikacji GC i odczynniki enzymatyczne muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C). Jeśli odczynnik-sonda zawiera wytrącony osad, który nie rozpuszcza się w temperaturze pokojowej, należy ogrzewać go w temperaturze 62°C przez 1-2 minuty. Po tym etapie ogrzewania odczynnik-sonda może być użyty, nawet jeśli pozostanie osad resztkowy. Po ponownym zawieszeniu wymieszać przez delikatne odwrócenie, uważając, aby nie wytworzyć piany.

**Uwaga:** Ten etap odwrócenia należy wykonać za każdym razem, gdy rozpuszcza się osad w roztworze, czy to przez ogrzewanie w temperaturze 62°C, czy przez ogrzewanie w temperaturze pokojowej.

3. Przygotować odczynnik wTCR GC

- a. Przenieść 20 mL TCR GC do odpowiednio dużego, przeznaczonego do tego celu, czystego, suchego pojemnika.
- b. Używając mikropipetora, dodać 200 µL TCR-B do TCR GC.
- c. Dokładnie wymieszać roztwór poprzez wirowanie.
- d. Oznakować pojemnik. Zapisać inicjały operatora, datę przygotowania i oba numery partii.

**Uwaga:** W przypadku mniejszej liczby reakcji (próbki i kontrole), do obliczenia objętości TCR GC i TCR-B należy użyć poniższego wzoru:

Objętość TCR (mL) = (liczba reakcji + 5 reakcji dodatkowych) x 0,1 mL

Objętość TCR-B (mL) = objętość TCR (mL) / 100

### C. Wychwytywanie cząsteczek szukanych

Pipetor powtarzalny używany w etapie wychwytywania cząsteczek szukanych i amplifikacji powinien być przeznaczony wyłącznie do użytku w tych etapach. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Ostrzeżenia i środki ostrożności*.

#### *Przygotowanie statywu*

1. Przed obróbką odczekać, aż kontrole i próbki osiągną temperaturę pokojową.
2. **Nie wytrząsać próbek.**
3. Wizualnie sprawdzić, czy każda probówka z próbką spełnia następujące kryteria:
  - a. Obecność pojedynczej niebieskiej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki unisex.
  - b. Obecność pojedynczej różowej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki wymazów Multitest lub z pochwy.
  - c. Końcowa objętość moczu pomiędzy czarnymi liniami napełnienia probówki transportowej do próbek moczu.
  - d. Brak wymazu w probówce transportowej na próbki Aptima w przypadku płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt.
4. Sprawdzić probówki z próbkami przed ich nakłuciem:
  - a. Jeżeli probówka z próbką zawiera pęcherzyki między płynem a zakrętką, wirować probówkę przez 5 minut w 420 RCF w celu wyeliminowania pęcherzyków.
  - b. Jeżeli objętość materiału w probówce z próbką jest mniejsza niż zwykle obserwowana w sytuacji, gdy przestrzegano instrukcji pobierania, wirować probówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że pod zakrętką nie będzie płynu.
  - c. Jeżeli poziom płynu w probówce do pobierania próbek moczu nie znajduje się pomiędzy dwoma czarnymi liniami wskaźnika na etykiecie, próbka musi zostać odrzucona. Nie należy przekłuwać przepełnionej probówki.
  - d. Jeśli próbka moczu zawiera osad, podgrzewać próbkę w temperaturze 37°C przez maksymalnie 5 minut. Jeśli wytrącony osad nie rozpuści się z powrotem w roztworze, wizualnie upewnić się, że nie przeszkodzi w podawaniu próbki.

**Uwaga:** Pominięcie etapów 4a-c może spowodować wyciek cieczy spod zakrętki probówki.

5. Jeżeli do badań mają być użyte próbki ze standardowymi zakrętkami (zakrętki nieprzepuszczalne), to przed odkręceniem należy je odwirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa) w celu zebrania całej cieczy na dnie probówki.

**Unikać rozpryskiwania i zanieczyszczenia krzyżowego.**

6. W statywie na zestawy dziesięcioprobówkowe (TTU) umieścić wystarczającą liczbę zestawów TTU, aby pomieścić kontrole i próbki.
7. Jeżeli pożądana jest lista robocza, należy ją utworzyć w tym miejscu. Instrukcje dotyczące tworzenia listy roboczej można znaleźć w *Instrukcji obsługi oprogramowania testu Aptima*.
8. Dokładnie wymieszać wTCR GC. Za pomocą pipetora powtarzalnego dodać 100 µL do każdej próbki.
9. **Pierwsza próbka reakcyjna testu musi zawierać kontrolę ujemną, a druga próbka reakcyjna musi zawierać kontrolę dodatnią.**
  - a. Etykieta kontroli ujemnej testu Aptima GC jest różowa. Tekst etykiety identyfikuje kontrolę ujemną jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC”. Etykieta kontroli dodatniej testu Aptima GC jest niebiesko-zielona. Tekst etykiety identyfikuje kontrolę dodatnią jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”.
  - b. Trzymać próbkę z kontrolą ujemną (próbka z różową etykietą) w jednej ręce lub trzymać ją w statywie. Używając mikropipetora, przekłuć zakrętkę, uważając, aby nie wbić końcówki w dno próbki. Dodać 400 µL kontroli ujemnej (próbka z różową etykietą) do pierwszej próbki reakcyjnej. W ten sam sposób, używając nowej końcówki pipety, dodać 400 µL kontroli dodatniej (próbka z niebiesko-zieloną etykietą) do drugiej próbki reakcyjnej.
10. Kontynuować procedurę ustawiania statywu, dodając po 400 µL każdej próbki do pozostałych próbek reakcyjnych. Dla każdej próbki i kontroli należy użyć nowej końcówki pipety. Dopuszczalna objętość próbki lub kontroli dodawanej do próbki reakcyjnej wynosi 400 µL ± 100 µL. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Uwagi dotyczące procedury, Pipetowanie kontroli i próbki*.

#### *Wychwytywanie cząsteczek szukanych*

Sposób korzystania z systemu do wychwytywania cząsteczek szukanych Hologic jest opisany w *Instrukcji obsługi systemu do wychwytywania cząsteczek szukanych*. W przypadku używania aparatu SB100 Dry Heat Bath/Vortexer należy zapoznać się z dokumentem *Karta zastosowania SB100*.

11. Nakryć zestawy dziesięcioprobówkowe (TTU) kartami uszczelniającymi i delikatnie ręcznie potrząsać statywem. **Nie wytrząsać intensywnie**. Inkubować statyw w łaźni wodnej w temperaturze 62°C ± 1°C przez 30 ± 5 minut.
12. Wyjąć statyw z łaźni wodnej i całkowicie osuszyć dna próbek na materiale wchłaniającym.
13. Upewnić się, że karty uszczelniające są pewnie osadzone. W razie potrzeby wymienić karty uszczelniające na nowe i dokładnie uszczelnić zestawy dziesięcioprobówkowe (TTU).
14. Wytrząsać statyw przez 60 sekund w wytrząsarce na wiele próbek. Aby uzyskać szczegółowe informacje, patrz *Uwagi dotyczące procedury, Wytrząsanie*. Rozpocząć wytrząsanie przed upływem 2 minut od wyjęcia statywu z łaźni wodnej.
15. Nie zdejmując kart uszczelniających, inkubować statyw w temperaturze pokojowej przez 30 ± 5 minut.
16. Umieścić statyw na podstawie magnetycznej systemu TCS na 5 do 10 minut.
17. Wstępnie napełnić przewód stanowiska dozowania, pompując roztwór do płukania Aptima przez kolektor dozowania. Przepompować przez układ taką ilość cieczy, by w przewodzie nie było pęcherzyków powietrza, a ze wszystkich dziesięciu dysz wypływały stabilne strumienie cieczy.



18. Włączyć pompę próżniową i odłączyć głowicę aspiracyjną przy pierwszym złączu między nią a butelką syfonową. Upewnić się, że wskazanie podciśnienia potwierdza poprawne wykonanie testu szczelności.<sup>2</sup> Uzyskanie tego odczytu może potrwać 15 sekund. Z powrotem podłączyć głowicę aspiracyjną i upewnić się, że wskazanie podciśnienia jest zgodne ze specyfikacją. Pozostawić pompę próżniową włączoną, dopóki wszystkie etapy wychwytywania cząsteczek szukanych nie zostaną wykonane, a przewód głowicy aspiracyjnej nie będzie pusty.
19. Pewnie przymocować głowicę aspiracyjną do pierwszego zestawu końcówek. Zaaspirować cały płyn, opuszczając końcówki do pierwszego TTU, aż końcówki zetkną się na krótko z dnem probówek. Nie należy utrzymywać końcówek w kontakcie z dnem probówek.
20. Po zakończeniu aspiracji zdjąć końcówki, umieszczając je w przeznaczonych na nie kasecie dziesięciokońcówkowej (TTC). Powtarzać etapy aspiracji z pozostałymi zestawami TTU, używając innej końcówki z każdą próbką.
21. Umieścić kolektor dozowania nad każdym zestawem TTU i za pomocą pompy w stanowisku dozowania podać po 1,0 mL roztworu do płukania Aptima do każdej próbki w zestawie TTU.
22. Nakryć próbki kartą uszczelniającą i wyjąć statyw z podstawy magnetycznej systemu TCS. Poddać statyw jednorazowemu wytrząsaniu we wstrząsarce na wiele probówek. Aby uzyskać szczegółowe informacje, patrz *Uwagi dotyczące procedury, Wytrząsanie*.
23. Umieścić statyw na podstawie magnetycznej systemu TCS na 5 do 10 minut.
24. Zaaspirować całą ciecz (patrz Etapy 19 i 20).
25. Po zakończeniu aspiracji zdjąć statyw z podstawy magnetycznej systemu TCS i obejrzeć próbki, aby upewnić się, że została zaaspirowana cała ciecz, a wszystkie próbki zawierają grudki cząsteczek magnetycznych. Jeśli widoczna jest jakakolwiek ilość cieczy, umieścić statyw z powrotem na podstawie magnetycznej systemu TCS na 2 minuty i powtórzyć aspirację z danego zestawu TTU, używając z każdą próbką tej samej końcówki, co poprzednio.

**Uwaga:** Jeśli po zakończeniu aspiracji widoczna jest grudka cząsteczek magnetycznych, próbkę można zaakceptować. Jeśli żadna grudka nie jest widoczna, próbkę należy ponownie przetestować. Jeśli w następnej serii w tym samym etapie ta sama próbka znów nie będzie zawierać grudek cząsteczek magnetycznych, można podejrzewać problem z konkretną próbką. W takiej sytuacji zaleca się ponowne pobranie próbki.

#### D. Amplifikacja

W przypadku używania aparatu SB100 Dry Heat Bath/Vortexer należy zapoznać się z dokumentem *Karta zastosowania SB100*.

1. Używając pipetora powtarzalnego, dodać po 75 µL przygotowanego odczynnika amplifikacji GC do każdej próbki reakcyjnej. Wszystkie mieszaniny reakcyjne w statywie powinny mieć teraz kolor czerwony.
2. Za pomocą pipetora powtarzalnego dodać po 200 µL odczynnika olejowego do każdej próbki reakcyjnej.
3. Nakryć próbki kartą uszczelniającą i wytrząsać je we wstrząsarce na wiele probówek.
4. Inkubować statyw w łaźni wodnej o temperaturze 62°C ± 1°C przez 10 ± 5 minut.
5. Przenieść statyw do łaźni wodnej o temperaturze 42°C ± 1°C i inkubować przez 5 ± 2 minuty.

---

<sup>2</sup> Aby uzyskać więcej informacji, należy zapoznać się z Arkuszem specyfikacji podciśnienia systemu wychwytywania cząsteczek szukanych, który znajduje się na tylnej stronie okładki *Instrukcji obsługi systemu do wychwytywania cząsteczek szukanych* lub skontaktować się z pomocą techniczną.

6. Ostrożnie zdjąć kartę uszczelniającą ze statywu znajdującego się w łaźni wodnej i za pomocą pipetora powtarzalnego dodać po 25  $\mu\text{L}$  przygotowanego odczynnika enzymatycznego do każdej probówki reakcyjnej. Wszystkie mieszaniny reakcyjne powinny mieć teraz kolor pomarańczowy.
7. Natychmiast nakryć probówki nową kartą uszczelniającą, wyjąć statyw z łaźni wodnej i wymieszać probówki reakcyjne, delikatnie ręcznie potrząsając statywem.
8. Inkubować statyw w łaźni wodnej o temperaturze  $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  przez  $60 \pm 15$  minut.

E. Test ochrony hybrydyzacji (Hybridization Protection Assay, HPA)

W przypadku używania aparatu SB100 Dry Heat Bath/Vortexer należy zapoznać się z dokumentem *Karta zastosowania SB100*.

Pipetor powtarzalny używany w etapach hybrydyzacji i selekcji powinien być przeznaczony wyłącznie do użytku w tych etapach. Patrz *Ostrzeżenia i środki ostrożności*.

1. Hybrydyzacja

- a. Wyjąć statyw z łaźni wodnej i przenieść go do obszaru HPA. Używając pipetora powtarzalnego, dodać po 100  $\mu\text{L}$  przygotowanego odczynnika-sondy GC do każdej probówki reakcyjnej. Wszystkie mieszaniny reakcyjne powinny mieć teraz kolor żółty.
- b. Nakryć probówki kartą uszczelniającą i wytrząsać statyw we wstrząsarce na wiele probówek.
- c. Inkubować statyw w łaźni wodnej o temperaturze  $62^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  przez  $20 \pm 5$  minut.
- d. Wyjąć statyw z łaźni wodnej i inkubować go w temperaturze pokojowej przez  $5 \pm 1$  minut.

2. Selekcja

- a. Za pomocą pipetora powtarzalnego dodać po 250  $\mu\text{L}$  odczynnika selekcyjnego do każdej probówki reakcyjnej. Wszystkie mieszaniny reakcyjne powinny mieć teraz kolor czerwony.
- b. Nakryć probówki kartą uszczelniającą, wytrząsać statyw przez 10 sekund lub do uzyskania jednorodnego zabarwienia i inkubować statyw w łaźni wodnej o temperaturze  $62^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  przez  $10 \pm 1$  minut.
- c. Wyjąć statyw z łaźni wodnej.

3. Detekcja

Detekcję należy wykonać w temperaturze od  $18^{\circ}\text{C}$  do  $28^{\circ}\text{C}$ .

- a. Inkubować statyw w temperaturze od  $18^{\circ}\text{C}$  do  $28^{\circ}\text{C}$  przez  $15 \pm 3$  minuty.

**Uwaga:** Ten zakres temperatur jest krytyczny dla wyników testów.

- b. Informacje na temat korzystania z Luminometru Leader™ HC+ i oprogramowania testu Aptima znajdują się w *Instrukcji obsługi Luminometru Leader HC+* i *Instrukcji obsługi oprogramowania do testu Aptima*.
- c. Upewnić się, że objętości odczynników Auto Detect 1 i 2 są wystarczające do ukończenia testów.
- d. Przygotować Luminometr Leader HC+, umieszczając jeden pusty zestaw dziesięcioprobówkowy (TTU) w kasecie na pozycji 1 i wykonując protokół **Wash (Płukanie)**.
- e. Załadować TTU do luminometru.

- f. Zalogować się do komputera. Kliknąć **New Run (Nowa seria)**, wybrać **Aptima GC Assay Protocol (Protokół analizy Aptima GC)** i wprowadzić liczbę probówek (kontroli i próbek). Kliknąć opcję **Next (Dalej)**, aby rozpocząć serię.

**Uwaga:** Seria musi zakończyć się w ciągu 2 godzin od zakończenia inkubacji w etapie selekcji.

- g. W pojemniku z tworzywa sztucznego z dużą zakrętką przygotować płyn dezaktywujący poprzez wymieszanie równych objętości roztworu podchlorynu sodu o stężeniu od 5% do 7% (0,7 M do 1,0 M) z buforem do płynu dezaktywującego Aptima. Na pojemniku z tworzywa sztucznego umieścić etykietę i zapisać na niej termin ważności. Płyn dezaktywujący jest stabilny przez 4 tygodnie w temperaturze pokojowej. Wyrzucić płyn dezaktywujący po 4 tygodniach lub po dezaktywacji 100 przetworzonych próbek (w zależności od tego, co nastąpi wcześniej).
- h. Po wyjęciu zużytych TTU z luminometru, umieścić TTU w pojemniku z płynem dezaktywującym. Pozostawić zestawy TTU w pojemniku na 15 minut przed poddaniem ich utylizacji. Właściwe metody postępowania z próbkami oraz utylizacji próbek powinien określić kierownik laboratorium.

## Uwagi dotyczące procedury

### A. Kontrole

Aby dobrze współpracować z oprogramowaniem testu Aptima, Kontrola ujemna dla GC, oznaczona „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC”, musi znajdować się na pierwszej pozycji pierwszego TTU. Kontrola dodatnia dla GC, oznaczona „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”, musi znajdować się na drugiej pozycji pierwszego TTU. Umieszczenie w niewłaściwej pozycji spowoduje niepowodzenie serii. Wszelkie dodatkowe kontrole należy wprowadzać jako próbki pobrane od pacjenta i monitorować przez operatora pod kątem akceptowalności. Kontrola dodatnia dla CT służy jako Kontrola ujemna dla testu Aptima GC.

### B. Pipetowanie kontroli i próbki

Objętość kontroli lub próbki dodawana do probówki reakcyjnej powinna wynosić 400 µL ± 100 µL. Zaleca się wzrokowe kontrolowanie objętości pipetowanych do probówki reakcyjnej w celu upewnienia się, że przenoszone są właściwe objętości. Właściwa objętość kontroli lub próbki jest niezbędna do uzyskania dokładnych wyników. Jeśli nie została odmierzona odpowiednia objętość, należy ponownie odmierzyć pipetą wTCR GC oraz kontrolę lub próbkę do nowej probówki reakcyjnej.

### C. Odczynniki

Z roztworu do przygotowania sond może w trakcie przechowywania wytrącać się osad. Jeśli tak się stanie, należy podgrzać roztwór do przygotowania sond w temperaturze 62°C przez 1 do 2 minut. Po tym etapie ogrzewania można użyć roztworu do przygotowania sond, nawet jeśli zawiera on resztkowy osad. Po ponownym zawieszeniu wymieszać fiolkę przez delikatne odwrócenie, uważając, aby nie wytworzyć piany.

### D. Temperatura

1. Etapy wychwytywania cząsteczek szukanych, amplifikacji, hybrydyzacji i selekcji są zależne od temperatury. Dlatego łaźnie wodne muszą być utrzymywane we wskazanych zakresach temperatur.
2. Temperatura pokojowa jest zdefiniowana jako zakres od 15°C do 30°C.
3. Etapy detekcji w teście należy wykonać w temperaturze od 18°C do 28°C.

## E. Czas

Reakcje wychwytywania cząsteczek szukanych, amplifikacji, hybrydyzacji i selekcji są zależne od temperatury. Należy przestrzegać czasów wskazanych w *Procedura testu w systemach DTS*.

## F. Wytrząsanie

Prawidłowe wytrząsanie jest ważne dla pomyślnego przebiegu testu Aptima GC. Gdy osiągnięty zostanie odpowiedni ruch wytrząsania, zawieszina zaczyna się obracać z prędkością, która unosi roztwór do górnej połowy probówki. Ta manipulacja (wytrząsanie) jest utrzymywana przez określony czas. Mieszaniny reakcyjne należy wytrząsać we wstrząsarce na wiele probówek, wewnątrz przymocowanego statywu. Należy nastawić najniższą prędkość wstrząsarki i włączyć zasilanie. Powoli zwiększać prędkość, dopóki ciecz nie będzie unosić się do połowy wysokości probówki. Wytrząsać przez 10 sekund, czyli czas podany w instrukcji, aż do uzyskania jednorodnego zabarwienia. Następnie, przed wyłączeniem wstrząsarki na wiele probówek i zdjęciu statywu należy nastawić najniższą prędkość. Mieszaniny reakcyjne nigdy nie powinny zetknąć się z kartami uszczelniającymi.

## G. Łąźnie wodne

1. Głębokość łąźni wodnych – mierzona od metalowej tacy podporowej (na dnie łąźni) do powierzchni wody – musi stale wynosić od 3,8 cm do 5 cm (1,5 cala do 2,0 cali). Zapewni to prawidłowy transfer ciepła.
2. Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego, w każdym etapie testu należy używać innej łąźni wodnej.

## H. Odkazanie

## 1. Powierzchnie i pipetory

Laboratoryjne powierzchnie robocze i pipetory należy regularnie odkazywać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy spłukać powierzchnie wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Roztwory chloru mogą powodować powstawanie wżerów na elementach wyposażenia, w tym elementach metalowych. Aby uniknąć powstawania wżerów, należy dokładnie spłukiwać wyposażenie wodą.

## 2. Głowica aspiracyjna systemu TCS

- a. Umieścić nową kasetę dziesięciokońcówkową (TTC) w przeznaczonym na nią statywie. Włączyć pompę próżniową. Połączyć głowicę aspiracyjną z końcówkami w kasecie TTC. Zaaspirować cały roztwór do płukania pozostały w zbiorniku do napełniania stacji dozowania roztworu do płukania. (Odsunąć kolektor dozowania tak, by nie przeszkadzał.)
- b. Do rynny do wstępnego napełniania wlać co najmniej 100 mL roztworu podchlorynu sodu o stężeniu od 0,5% do 0,7% (od 0,07 M do 0,1 M) albo, jeśli takie stężenie jest preferowane, od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Zaaspirować cały roztwór przez głowicę aspiracyjną.
- c. Wlać co najmniej 100 mL wody dejonizowanej do rynny do wstępnego napełniania. Zaaspirować całą wodę przez głowicę aspiracyjną.
- d. Zdjąć końcówki, umieszczając je w pierwotnej kasecie TTC.
- e. Nie wyłączać pompy próżniowej, dopóki przewody kolektora nie będą suche, aby nie dochodziło do przepływu wstecznego.

- f. Odkazić powierzchnie głowicy aspiracyjnej zgodnie z instrukcją (patrz *System TCS*).

### 3. Pojemnik na odpady systemu TCS

Gdy butelka na odpady jest wypełniona w 25% lub co tydzień, wyjąć butelkę na odpady z systemu wychwytywania cząsteczek szukanych.

- a. Wyłączyć pompę próżniową i poczekać na wyrównanie podciśnienia.
- b. Zwolnić szybkozłączki między butelką na odpady a butelką przelewową oraz między butelką na odpady a głowicą aspiracyjną.
- c. Wyjąć butelkę na odpady z obudowy syfonu próżniowego.
- d. Zdjąć zakrętkę i ostrożnie dolać 400 mL roztworu podchlorynu sodu o stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M) do butelki (o pojemności 1 L, jeśli używa się butelki na odpady o pojemności 10 L).

**Uwaga:** Czynność tę można wykonywać pod wyciągiem, aby uniknąć uwolnienia oparów do laboratorium.

- e. Zamknąć butelkę na odpady i dokładnie wymieszać zawartość delikatnym ruchem wirowym.
- f. Pozostawić butelkę nieruchomo na 15 minut, a następnie zutylizować zawartość (odpady).
- g. Przepłukać butelkę na odpady wodą i usunąć z niej wszelkie odpady.
- h. Zamknąć pustą butelkę na odpady i umieścić w obudowie syfonu próżniowego. Podłączyć szybkozłączki do systemu TCS. Ostrożnie wyrzucić obie rękawiczki.

### 4. System TCS

Przetrzeć powierzchnie obudowy systemu TCS, głowicy aspiracyjnej i końcówek podających bufor do płukania ręcznikami papierowymi zwilżonymi roztworem podchlorynu sodu o stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Po czyszczeniu podchlorynem sodu opłukać wodą, a następnie całkowicie osuszyć powierzchnie ręcznikami papierowymi.

### 5. Statywy

Zanurzyć statywy w roztworze podchlorynu sodu o stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M), dbając o to, by w całości znalazły się pod powierzchnią roztworu podchlorynu sodu. Pozostawić statywy zanurzone przez 10 minut. Dłuższa ekspozycja może spowodować uszkodzenie statywów. Spłukać statywy dokładnie wodą, umieścić je na czystej, chłonnej podkładce i pozostawić do wyschnięcia na powietrzu. Aby przedłużyć żywotność statywów, należy pozostawić je do wyschnięcia w pozycji pionowej, nie do góry nogami.

#### I. Skażenie testu

1. Brak należytej staranności podczas wykonywania protokołu analizy może być przyczyną wprowadzenia substancji skażających.
2. Wymagane jest odkażanie zestawów dziesięcioprobówkowych (TTU), zgodnie z *Detekcja*. Nie wolno ponownie używać zestawów TTU.
3. Należy regularnie odkażać wyposażenie i powierzchnie robocze zgodnie z instrukcjami przedstawionymi w *Uwagi dotyczące procedury, Odkażanie*.
4. Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników, nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować kontaminację otwartych probówek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

#### J. Protokół monitorowania kontaminacji laboratoryjnej w systemach DTS

Istnieje wiele czynników specyficznych dla laboratorium mogących przyczynić się do kontaminacji, wliczając w to objętość badania, przebieg pracy, częstość występowania chorób i różne inne czynności laboratoryjne. Należy uwzględnić te czynniki przy ustalaniu częstości monitorowania kontaminacji. Przedziały czasowe dla monitorowania kontaminacji należy ustalić na podstawie praktyk i procedur każdego laboratorium.

Aby monitorować kontaminację laboratoryjną, można wykonać przy użyciu zestawu do pobierania próbek wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex następującą procedurę:

1. Oznaczyć próbki transportowe wymazów numerami odpowiadającymi obszarom, które mają być testowane.
2. Wyjąć próbkę wymazu (wymazówka z niebieskim trzonkiem i zielonym nadrukiem) z opakowania, zwilżyć wymazówkę w podłożu transportowym do wymazów i kolistym ruchem nanieść wymaz na oznaczony obszar.
3. Natychmiast włożyć wymazówkę do próbki transportowej.
4. Ostrożnie złamać trzonek wymazówki na linii nacięcia, uważając, aby nie rozpryskiwać zawartości.
5. Zamknąć szczelnie próbkę do transportu wymazówki.
6. Powtórzyć Etapy 2 do 5 dla każdego obszaru, który ma być wymazany.
7. Zbadać wymaz przy użyciu testu Aptima GC, zgodnie z *Procedura testu w systemach DTS*.

Jeżeli wyniki są dodatnie dla GC lub niejednoznaczne (patrz *Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent*), powierzchnia może być skażona i powinna zostać odkażona poprzez zastosowanie roztworu podchlorynu sodu zgodnie z zaleceniami podanymi w *Procedura testu w systemach DTS, Przygotowanie sprzętu*.

**Uwaga:** W przypadku podejrzenia skażenia łaźni wodnej, woda z łaźni może zostać zbadana przy użyciu procedury badania próbek moczu, poprzez dodanie 2,0 mL wody do próbki do transportu próbek moczu.

#### K. Diagnostyka i usuwanie usterek

1. Niskie wartości kontroli dodatniej mogą być spowodowane niewłaściwą temperaturą podczas różnych etapów testu lub wydłużeniem czasu selekcji w etapie selekcji ponad zalecany czas.
2. Wysokie tło może wystąpić, jeśli czas selekcji w etapie selekcji zostanie skrócony, temperatura selekcji nie jest prawidłowa lub po dodaniu odczynnika selekcyjnego nastąpi niewystarczające wymieszanie.
3. Jeśli kontrola ujemna Aptima dla GC, oznaczona jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC” jest dodatnia lub niejednoznaczna dla GC, patrz *Uwagi dotyczące procedury, Skażenie testu*, aby uzyskać więcej informacji.

## System Tigris DTS

Poniżej wymieniono odczynniki potrzebne do wykonania testu Aptima GC w systemie Tigris DTS. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

### Dostarczone odczynniki i materiały

**Uwaga:** Informacje dotyczące zwrotów wskazujących zagrożenia i środki ostrożności, które mogą się wiązać z odczynnikami, przedstawiono w bibliotece kart charakterystyki produktów na stronie [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

#### Zestaw testów Aptima Neisseria gonorrhoeae

100 testów (2 pudełka i 1 zestaw kontroli) (kat. nr 303092)

**Skrzynia chłodnicza na testy Aptima Neisseria gonorrhoeae (Skrzynia 1 z 2)**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
		zestaw 100 testów
A	<b>Odczynnik amplifikacji GC Aptima</b> <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
E	<b>Odczynnik enzymatyczny Aptima</b> <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym &lt; 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
P	<b>Odczynnik-sonda GC Aptima</b> <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	1 fiolka
TCR-B	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B Aptima</b> <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	1 x 0,30 mL

Skrzynia do przechowywania w temperaturze pokojowej na testy Aptima *Neisseria gonorrhoeae*  
(Skrzynia 2 z 2)  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
		zestaw 100 testów
AR	<b>Rozwór do przygotowania odczynnika amplifikacji GC Aptima</b> <i>Rozwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 x 11,9 mL
ER	<b>Rozwór do przygotowania odczynników enzymatycznych Aptima</b> <i>Rozwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 6,3 mL
PR	<b>Rozwór do przygotowania odczynników-sond GC Aptima</b> <i>Rozwór buforowany bursztynianem zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	1 x 15,2 mL
S	<b>Odczynnik selekcyjny Aptima</b> <i>Rozwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 x 43,0 mL
TCR	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych GC Aptima</b> <i>Buforowany roztwór soli zawierający fazę stałą i oligomery wychwytyjące.</i>	1 x 26,0 mL
	<b>Kołnierze do przygotowania odczynników</b>	3
	<b>Karta z kodami kreskowymi partii głównych</b>	1 karta

#### Zestaw kontroli Aptima

(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
PGC/NCT	<b>Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT Aptima</b> <i>Niezakaźny kwas nukleinowy GC w buforowanym roztworze zawierającym &lt; 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA 50 komórek GC (250 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL
PCT/NGC	<b>Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC Aptima</b> <i>Niezakaźny kwas nukleinowy CT w buforowanym roztworze zawierającym &lt; 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA dla 1 CT IFU (5 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL

\*Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu.



**Materiały wymagane, ale dostępne osobno**

*Uwaga: Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.*

	<u>Kat. Nr</u>
System Tigris DTS	105118
Zestaw płynów do testu Aptima <i>(Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima, odczynnik olejowy Aptima)</i>	302382
Zestaw Aptima Auto Detect	301048
Zestaw z płynem konserwującym do systemu Aptima	302380
Końcówki przewodzące 1000 µL, wykrywające ciecz	10612513 (Tecan)
Zestaw wstępny do systemu Tigris DTS zawierający	301191
<i>Zestawy wieloprobówkowe (MTU)</i>	<i>104772-02</i>
<i>Zestaw worków na zużyte końcówki zasysające do MTU</i>	<i>900907</i>
<i>Oslony pojemników na odpady MTU</i>	<i>900931</i>
<i>Pokrywy pojemników na odpady MTU</i>	<i>105523</i>
Zestaw do transportu próbek Aptima <i>do stosowania z próbkami w roztworze PreservCyt</i>	301154C
Zestaw do transportu próbek Aptima – drukowalny <i>do stosowania z próbkami w roztworze PreservCyt</i>	PRD-05110
Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest	PRD-03546
Zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex	301041
Zestaw do pobierania próbek moczu Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	301040
Probówki transportowe Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	105575
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M)	—
Woda do systemu Tigris DTS <i>specyfikację zawiera Instrukcja obsługi systemu Tigris DTS</i>	—
Rękawiczki jednorazowe	—
Wzorzec kalibracji SysCheck	301078
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Zapasowe zakrętki do zestawów z 100 testami	—
<i>Roztwory do przygotowania odczynnika amplifikacji, enzymatycznego i odczynnika-sondy</i>	<i>CL0041 (100 zakrętek)</i>
<i>Odczynnik TCR i selekcyjny</i>	<i>501604 (100 zakrętek)</i>

## Materiały opcjonalne

	<u>Kat. Nr</u>
Zestaw kontroli Aptima	301110
Wzmacniacz wybielacza do czyszczenia Hologic <i>do rutynowego czyszczenia powierzchni i sprzętu</i>	302101

## Procedura testu w systemie Tigris DTS

**Uwaga:** Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS.

### A. Przygotowanie obszaru roboczego

Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki i próbki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy spłukać powierzchnie wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię roboczą, na której będą przygotowywane odczynniki i próbki, czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.

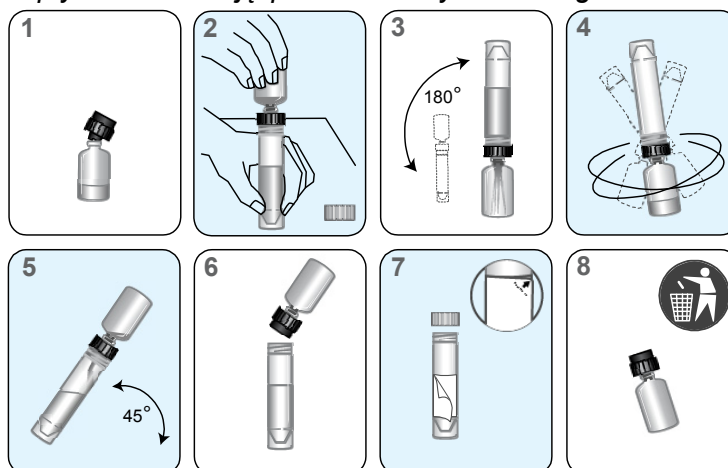
### B. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

**Uwaga:** Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w systemie Tigris DTS.

1. Aby przygotować odczynniki amplifikacji GC, odczynniki enzymatyczne i odczynniki-sondy GC, należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynnikami z zawartością butelek z roztworami do przygotowania. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodniarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do przygotowania odczynników osiągną temperaturę pokojową.
  - a. Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika. Przed założeniem kołnierza do przygotowania odczynników upewnić się, że roztwór do przygotowania i liofilizowany odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze.
  - b. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
  - c. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór fiolki (Rysunek 2, etap 1).
  - d. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
  - e. Trzymając buteleczkę z roztworem na stole, mocno wcisnąć drugi koniec kołnierza w otwór buteleczki (Rysunek 2, etap 2).
  - f. Powoli odwrócić połączone buteleczki. Poczekać, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 2, etap 3).
  - g. Delikatnie zataczać fiolkę koła w powietrzu, aby wymieszać jej zawartość. Nie dopuszczać do wytwarzania piany podczas mieszania zawartości fiolki ruchem wirowym (Rysunek 2, etap 4).
  - h. Odczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, następnie ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować powstawanie piany (Rysunek 2, etap 5). Odczekać, aż całość płynu z powrotem przesączy się do plastikowej buteleczki.

- i. Zdjąć kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 2, etap 6).
- j. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę.
  - W przypadku butelek na 100 testów należy zapisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników bezpośrednio na etykiecie (patrz Rysunek 3).
- k. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 2, etap 8).

**Ostrzeżenie:** Unikać tworzenia piany podczas przygotowywania odczynników. Piana ma niekorzystny wpływ na detekcję poziomu w systemie Tigris DTS.



**Rysunek 2. Proces przygotowania w systemie Tigris DTS**

2. Przygotować roboczy TCR GC (wTCR GC) dla zestawu 100 testów
  - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR GC i TCR-B.
  - b. Sprawdzić numery partii odczynników na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki z zestawu.
  - c. Otworzyć buteleczkę TCR GC i odłożyć pokrywkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
  - d. Otworzyć buteleczkę TCR-B i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR GC. Przewiduje się, że w buteleczce TCR-B pozostanie niewielka ilość płynu.
  - e. Nałożyć zatyczkę na buteleczkę z TCR GC i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. Na tym etapie unikać tworzenia piany.
  - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
  - g. Wyrzucić buteleczkę TCR-B i zakrętkę.
3. Przygotować odczynnik selekcyjny
  - a. Sprawdź numer partii na butelce z odczynnikiem, aby upewnić się, że zgadza się on z numerem partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
  - b. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.

**Uwaga:** Przed włożeniem do systemu dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.

#### C. Przygotowanie odczynników wcześniej przygotowanych

1. Wcześniej przygotowane odczynniki amplifikacji GC, enzymatyczne i odczynniki-sondy GC muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C) przed rozpoczęciem testu.
2. Jeśli przygotowany odczynnik-sonda GC zawiera osad, który nie powraca do stanu roztworu w temperaturze pokojowej, należy podgrzewać zamkniętą butelkę w

temperaturze nieprzekraczającej 62°C przez 1 do 2 minut. Po tym etapie ogrzewania odczynnik-sonda GC może być użyty, nawet jeśli pozostanie osad resztkowy. Przed załadowaniem do systemu wymieszać odczynnik-sondę GC przez jego odwracanie, uważając jednocześnie, aby nie spowodować powstania piany.

3. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając przed włożeniem do aparatu. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.
4. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. System Tigris DTS rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

#### D. Obchodzenie się z próbkami

1. Przed obróbką odczekać, aż kontrole i próbki osiągną temperaturę pokojową.
2. **Nie wytrząsać próbek.**
3. Wizualnie sprawdzić, czy każda probówka z próbką spełnia następujące kryteria:
  - a. Obecność pojedynczej niebieskiej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki unisex.
  - b. Obecność pojedynczej różowej wymazówki Aptima w probówce transportowej na próbki wymazów Multitest lub z pochwy.
  - c. Końcowa objętość moczu pomiędzy czarnymi liniami napełnienia probówki transportowej do próbek moczu.
  - d. Brak wymazu w probówce transportowej na próbki Aptima w przypadku płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt.
4. Przed włożeniem do statywu sprawdzić probówki z próbkami:
  - a. Jeżeli probówka z próbką zawiera pęcherzyki między płynem a zakrętką, wirować probówkę przez 5 minut w 420 RCF w celu wyeliminowania pęcherzyków.
  - b. Jeżeli objętość materiału w probówce z próbką jest mniejsza niż zwykle obserwowana w sytuacji, gdy przestrzegano instrukcji pobierania, wirować probówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że pod zakrętką nie będzie płynu.
  - c. Jeżeli poziom płynu w probówce do pobierania próbek moczu nie znajduje się pomiędzy dwoma czarnymi liniami wskaźnika na etykiecie, próbka musi zostać odrzucona. Nie należy przekłuwać przepełnionej probówki.
  - d. Jeśli próbka moczu zawiera osad, podgrzewać próbkę w temperaturze 37°C przez maksymalnie 5 minut. Jeśli wytrącony osad nie rozpuści się z powrotem w roztworze, wizualnie upewnić się, że nie przeszkodzi w podawaniu próbki.

**Uwaga:** Pominięcie etapów 4a-c może spowodować wyciek cieczy spod zakrętki probówki.

**Uwaga:** Z każdej probówki z próbką można poddać badaniu maksymalnie 3 odrębne porcje. Próby pobrania pipetą więcej niż 3 porcji z probówki z próbką mogą doprowadzić do błędów wynikających ze zbyt małej objętości.

#### E. Przygotowanie systemu

Skonfigurować system i listę roboczą zgodnie z instrukcjami zawartymi w *Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS* oraz *Uwagi dotyczące procedury*.

## Uwagi dotyczące procedury

### A. Kontrole

1. Do prawidłowej pracy z oprogramowaniem testu Tigris Aptima wymagane są kontrole początkowe i końcowe. Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC musi znajdować się na pierwszej i przedostatniej pozycji listy roboczej. Etykieta tej kontroli ma kolor różowy. Tekst etykiety to „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC”. Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT musi znajdować się na drugiej i ostatniej pozycji listy roboczej. Etykieta tej kontroli ma kolor niebiesko-zielony. Tekst etykiety to „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”.
2. Każdą rurkę kontrolną Aptima można użyć w teście jeden raz. Próba pobrania pipetą z próbówki więcej niż jeden raz może doprowadzić do błędów wynikających z niewystarczającej objętości.

### B. Temperatura

Temperatura pokojowa jest zdefiniowana jako zakres od 15°C do 30°C.

### C. Puder z rękawiczek

Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników, nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować kontaminację otwartych próbek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

### D. Protokół monitorowania kontaminacji laboratoryjnej w systemie Tigris DTS

Istnieje wiele czynników specyficznych dla laboratorium mogących przyczyniać się do kontaminacji, wliczając w to objętość badania, przebieg pracy, częstość występowania chorób i różne inne czynności laboratoryjne. Należy uwzględnić te czynniki przy ustalaniu częstości monitorowania kontaminacji. Przedziały czasowe dla monitorowania kontaminacji należy ustalić na podstawie praktyk i procedur każdego laboratorium.

Aby monitorować kontaminację laboratoryjną, można wykonać przy użyciu zestawu do pobierania próbek wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex następującą procedurę:

1. Oznaczyć próbki transportowe wymazów numerami odpowiadającymi obszarom, które mają być testowane.
2. Wyjąć próbkę wymazu (wymazówka z niebieskim trzonkiem i zielonym nadrukiem) z opakowania, zwilżyć wymazówkę w podłożu transportowym do wymazów i kolistym ruchem nanieść wymaz na oznaczony obszar.
3. Natychmiast włożyć wymazówkę do próbówki transportowej.
4. Ostrożnie złamać trzonek wymazówki na linii nacięcia, uważając, aby nie rozpryskiwać zawartości.
5. Zamknąć szczelnie próbkę do transportu wymazówki.
6. Powtórzyć Etapy 2 do 5 dla każdego obszaru, który ma być wymazany.

Jeśli wyniki GC są dodatnie lub niejednoznaczne, patrz *Interpretacja testu – wyniki QC/ Pacjent*, aby uzyskać dodatkowe informacje dotyczące monitorowania kontaminacji, specyficzne dla systemu Tigris DTS. Patrz *Instrukcja obsługi systemu Tigris DTS*.

## Panther System

Poniżej wymieniono odczynniki potrzebne do wykonania testu Aptima GC w Panther System. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

### Dostarczone odczynniki i materiały

**Uwaga:** Informacje dotyczące zwrotów wskazujących zagrożenia i środki ostrożności, które mogą się wiązać z odczynnikiem, przedstawiono w bibliotece kart charakterystyki produktów na stronie [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Zestaw testów Aptima Neisseria gonorrhoeae**, 100 testów (2 opakowania i 1 zestaw kontroli) (kat. nr 302927)

**Skrzynia chłodnicza na testy Aptima Neisseria gonorrhoeae (Skrzynia 1 z 2)**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	<b>Odczynnik amplifikacji GC Aptima</b> <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym &lt; 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
E	<b>Odczynnik enzymatyczny GC Aptima</b> <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym &lt; 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
P	<b>Odczynnik-sonda GC Aptima</b> <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	1 fiolka
TCR-B	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B GC Aptima</b> <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze zawierającym &lt; 5% detergentu.</i>	1 x 0,30 mL

**Skrzynia do przechowywania w temperaturze pokojowej na testy Aptima Neisseria gonorrhoeae (Skrzynia 2 z 2)**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
AR	<b>Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji GC Aptima</b> <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 x 11,9 mL
ER	<b>Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych GC Aptima</b> <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 6,3 mL
PR	<b>Roztwór do przygotowania odczynników-sond GC Aptima</b> <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający &lt; 5% detergentu.</i>	1 x 15,2 mL
S	<b>Odczynnik selekcyjny GC Aptima</b> <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 x 43,0 mL
TCR	<b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych GC Aptima</b> <i>Buforowany roztwór soli zawierający fazę stałą i oligomery wychwytywujące.</i>	1 x 26,0 mL
	<b>Kołnierze do przygotowania odczynników</b>	3
	<b>Karta z kodami kreskowymi partii głównych</b>	1 karta

**Zestaw kontroli Aptima**

(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
PGC/NCT	<b>Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT Aptima</b> <i>Niezakaźny kwas nukleinowy GC w buforowanym roztworze zawierającym &lt; 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA 50 komórek GC (250 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL
PCT/NGC	<b>Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC Aptima</b> <i>Niezakaźny kwas nukleinowy CT w buforowanym roztworze zawierającym &lt; 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA dla 1 CT IFU (5 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL

\*Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu.

**Materiały wymagane, ale dostępne osobno**

**Uwaga:** Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.

	<u>Kat. Nr</u>
Panther System	303095
Zestaw płynów do testu Aptima <i>(Roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima, odczynnik olejowy Aptima)</i>	303014 (1000 testów)
Zestaw Aptima Auto Detect	303013 (1000 testów)
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther	902731
Oslona pojemnika na odpady Panther	504405
Lub zestaw Panther Run <i>zawiera zestawy MTU, torby na odpady, pokrywy pojemników na odpady, płyny testowe i odczynniki Auto Detect</i>	303096 (5000 testów)
Końcówki przewodzące 1000 µL, wykrywające ciecz	10612513 (Tecan)
Zestaw do transportu próbek Aptima <i>do stosowania z próbkami w roztworze PreservCyt</i>	301154C
Zestaw do transportu próbek Aptima – drukowalny <i>do stosowania z próbkami w roztworze PreservCyt</i>	PRD-05110
Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest	PRD-03546
Zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex	301041
Zestaw do pobierania próbek moczu Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	301040
Probówki transportowe Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn	105575

Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M)	—
Rękawiczki jednorazowe	—
Wzorzec kalibracji SysCheck	301078
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Zapasowe zakrętki do zestawów z 100 testami	—
<i>Roztwory do przygotowania odczynnika amplifikacji, enzymatycznego i odczynnika-sondy</i>	<i>CL0041 (100 zakrętek)</i>
<i>Odczynnik TCR i selekcyjny</i>	<i>501604 (100 zakrętek)</i>

## Materiały opcjonalne

	<u>Kat. Nr</u>
Zestaw kontroli Aptima	301110
Wzmacniacz wybielacza do czyszczenia Hologic <i>do rutynowego czyszczenia powierzchni i sprzętu</i>	302101

## Procedura testu w Panther System

**Uwaga:** Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w Instrukcji obsługi Panther System.

### A. Przygotowanie obszaru roboczego

- Oczyścić powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki i próbki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy spłukać powierzchnie wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię roboczą, na której będą przygotowywane odczynniki i próbki, czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.

### B. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

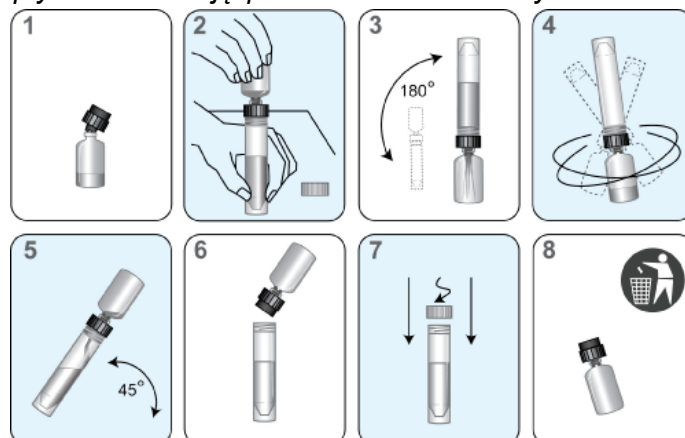
**Uwaga:** Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w aparacie Panther System.

- Aby przygotować odczynniki amplifikacji GC, odczynniki enzymatyczne GC i odczynniki-sondy GC, należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynnikiem z zawartością butelek z roztworami do przygotowania. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodziarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do przygotowania odczynników osiągną temperaturę pokojową.
  - Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika. Przed założeniem kołnierza do przygotowania odczynników upewnić się, że roztwór do przygotowania odczynników i odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze.
  - Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
  - Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza do przygotowania odczynników w otwór fiolki (Rysunek 3, etap 1).



- d. Otworzyć butelkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania odczynników i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
- e. Trzymając buteleczkę z roztworem na stole, mocno włożyć drugi koniec kołnierza do przygotowania odczynników do butelki (Rysunek 3, etap 2).
- f. Powoli odwrócić połączone buteleczki. Począć, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 3, etap 3).
- g. Delikatnie obrócić buteleczkę z roztworem, aby wymieszać. Nie dopuszczać do utworzenia się piany podczas mieszania zawartości butelki ruchem wirowym (Rysunek 3, etap 4).
- h. Odczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, następnie ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować tworzenie się piany (Rysunek 3, etap 5). Odczekać, aż całość płynu z powrotem przesączy się do plastikowej buteleczki.
- i. Zdjąć kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 3, etap 6).
- j. Zakręcić plastikową buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 3, etap 7).
- k. Wyrzucić kołnierz i fiolkę (Rysunek 3, etap 8).

**Ostrzeżenie:** Unikać tworzenia piany podczas przygotowywania odczynników. Piana ma niekorzystny wpływ na detekcję poziomu w Panther System.



**Rysunek 3. Proces przygotowania w Panther System**

2. Przygotować odczynnik wTCR GC
  - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR GC i TCR-B.
  - b. Sprawdzić numery partii odczynników na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki z zestawu.
  - c. Otworzyć buteleczkę TCR GC i odłożyć pokrywkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
  - d. Otworzyć buteleczkę TCR-B i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR GC. Przewiduje się, że w buteleczce TCR-B pozostanie niewielka ilość płynu.
  - e. Nałożyć zatyczkę na buteleczkę z TCR GC i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. Na tym etapie unikać tworzenia piany.
  - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
  - g. Wyrzucić buteleczkę TCR-B i zakrętkę.

3. Przygotować odczynnik selekcyjny
  - a. Sprawdź numer partii na butelce z odczynnikami, aby upewnić się, że zgadza się on z numerem partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
  - b. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.

**Uwaga:** *Przed załadowaniem do systemu należy dokładnie wymieszać odczynniki amplifikacji GC, enzymatyczny GC, odczynnik-sondę GC i selekcyjny GC, delikatnie je obracając. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.*

- C. Przygotowanie odczynników wcześniej przygotowanych
  1. Wcześniej przygotowane odczynniki amplifikacji, enzymatyczne i odczynniki-sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C) przed rozpoczęciem testu.
  2. Jeśli przygotowany odczynnik-sonda GC zawiera osad, który nie powraca do stanu roztworu w temperaturze pokojowej, należy podgrzewać zamkniętą butelkę w temperaturze nieprzekraczającej 62°C przez 1 do 2 minut. Po tym etapie ogrzewania odczynnik-sonda GC może być użyty, nawet jeśli pozostanie osad resztkowy. Przed załadowaniem do systemu wymieszać odczynnik-sondę GC przez jego odwracanie, uważając jednocześnie, aby nie spowodować powstania piany.
  3. Dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając przed włożeniem do aparatu. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.
  4. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.
- D. Obchodzenie się z próbkami
  1. Przed obróbką odczekać, aż kontrole i próbki osiągną temperaturę pokojową.
  2. **Nie wytrząsać próbek.**
  3. Wizualnie sprawdzić, czy każda próbówka z próbką spełnia następujące kryteria:
    - a. Obecność pojedynczej niebieskiej wymazówki Aptima w próbówce transportowej na próbki unisex.
    - b. Obecność pojedynczej różowej wymazówki Aptima w próbówce transportowej na próbki wymazów Multitest lub z pochwy.
    - c. Końcowa objętość moczu pomiędzy czarnymi liniami napełnienia próbówki transportowej do próbek moczu.
    - d. Brak wymazu w próbówce transportowej na próbki Aptima w przypadku płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt.
  4. Przed włożeniem do statywu sprawdzić próbówki z próbkami:
    - a. Jeżeli próbówka z próbką zawiera pęcherzyki między płynem a zakrętką, wirować próbówkę przez 5 minut w 420 RCF w celu wyeliminowania pęcherzyków.
    - b. Jeżeli objętość materiału w próbówce z próbką jest mniejsza niż zwykle obserwowana w sytuacji, gdy przestrzegano instrukcji pobierania, wirować próbówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że pod zakrętką nie będzie płynu.
    - c. Jeżeli poziom płynu w próbówce do pobierania próbek moczu nie znajduje się pomiędzy dwoma czarnymi liniami wskaźnika na etykiecie, próbka musi zostać odrzucona. Nie należy przekłuwać przepełnionej próbówki.
    - d. Jeśli próbka moczu zawiera osad, podgrzewać próbkę w temperaturze 37°C przez maksymalnie 5 minut. Jeśli wytrącony osad nie rozpuści się z powrotem w roztworze, wizualnie upewnić się, że nie przeszkodzi w podawaniu próbki.

**Uwaga:** *Pominięcie etapów 4a-c może spowodować wyciek cieczy spod zakrętki próbówki.*

**Uwaga:** Z każdej próbki z próbką można poddać badaniu maksymalnie 4 odrębne porcje. Próby pobrania pipetą więcej niż 4 porcji z próbki z próbką mogą doprowadzić do błędów w czasie pracy.

#### E. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z instrukcjami, które zawiera *Instrukcja obsługi Panther System* oraz *Uwagi dotyczące procedury*. Sprawdzić, czy stosowane są statywy na odczynniki o odpowiedniej wielkości oraz adaptery TCR.
2. Załadować próbki.

### Uwagi dotyczące procedury

#### A. Kontrole

1. Do prawidłowej pracy z oprogramowaniem testu Panther Aptima wymagana jest jedna para kontroli. Probówki Kontroli Dodatniej, CT / Kontroli Ujemnej, GC i Kontroli Dodatniej, GC / Kontroli Ujemnej CT mogą być załadowane w każdej pozycji statywu lub na każdym torze wewnątrz na próbki w Panther System. Pipetowanie próbek pacjenta rozpocznie się, gdy zostanie spełniony jeden z następujących dwóch warunków:
  - a. Obecnie system przetwarza parę kontroli.
  - b. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kontroli.
2. Po pipetowaniu próbek kontrolnych i przetwarzaniu ich na określony zestaw odczynników, próbki pacjentów można analizować z powiązaniem zestawem odczynników analitycznych do 24 godzin, **chyba że**:
  - a. Kontrole są nieważne.
  - b. Usunięto z systemu powiązany zestaw odczynników analitycznych.
  - c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
3. Każdą rurkę kontrolną Aptima można użyć w teście jeden raz. Próby pipetowania więcej niż jeden raz z próbki mogą doprowadzić do błędów w czasie pracy.

#### B. Temperatura

Temperatura pokojowa jest zdefiniowana jako zakres od 15°C do 30°C.

#### C. Puder z rękawiczek

Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników, nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować kontaminację otwartych próbek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

#### D. Protokół monitorowania kontaminacji laboratoryjnej w Panther System

Istnieje wiele czynników specyficznych dla laboratorium mogących przyczyniać się do kontaminacji, wliczając w to objętość badania, przebieg pracy, częstość występowania chorób i różne inne czynności laboratoryjne. Należy uwzględnić te czynniki przy ustalaniu częstości monitorowania kontaminacji. Przedziały czasowe dla monitorowania kontaminacji należy ustalić na podstawie praktyk i procedur każdego laboratorium.

Aby monitorować kontaminację laboratoryjną, można wykonać przy użyciu zestawu do pobierania próbek wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex następującą procedurę:

1. Oznaczyć próbki transportowe wymazów numerami odpowiadającymi obszarom, które mają być testowane.

2. Wyjąć próbkę wymazu (wymazówka z niebieskim trzonkiem i zielonym nadrukiem) z opakowania, zwilżyć wymazówkę w podłożu transportowym do wymazów i kolistym ruchem nanieść wymaz na oznaczony obszar.
3. Natychmiast włożyć wymazówkę do probówki transportowej.
4. Ostrożnie złamać trzonek wymazówki na linii nacięcia, uważając, aby nie rozpryskiwać zawartości.
5. Zamknąć szczelnie probówkę do transportu wymazówki.
6. Powtórzyć etapy od 2 do 5 dla każdego obszaru, który ma być wymazany.

Jeżeli wyniki są dodatnie lub niejednoznaczne dla GC, patrz *Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent*. W celu uzyskania dodatkowych informacji dotyczących monitorowania kontaminacji specyficznej dla Panther System, należy skontaktować się z pomocą techniczną firmy Hologic.

## Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent

### A. Interpretacja testu

Wyniki testów są automatycznie interpretowane przez oprogramowanie testu Aptima przy użyciu protokołu GC. Wynik testu może być ujemny, niejednoznaczny, dodatni lub nieważny, jak określono na podstawie łącznych RLU w etapie wykrywania (patrz poniżej). Wynik testu może być nieważny ze względu na wartości RLU wykraczające poza normalne oczekiwane zakresy. Próbkę z początkowo niejednoznacznym i nieważnym wynikiem należy ponownie zbadać.

Interpretacja testu	Łączne RLU (x1000)
Ujemny	0* do < 50
Niejednoznaczny	50 do < 100
Dodatni o niskim RLU <sup>1,2,3</sup>	100 do < 2000
Dodatni <sup>1,2</sup>	2 000 do < 12 000
Nieważny	0* lub > 12 000

\* Zerowy (0 x 1000) wynik RLU w raporcie z badania reprezentuje wartość pomiędzy zero a 999 RLU. Wartości RLU mniejsze niż 160 w systemach DTS lub 690 w systemach Tigris DTS lub Panther System będą zgłaszane jako nieważne.

<sup>1</sup> Zgodnie z wytycznymi CDC: „należy rozważyć rutynowe wykonanie dodatkowych badań u osób z dodatnimi wynikami testów przesiewowych CT lub GC, jeśli informacje o czynnikach ryzyka lub rzeczywiste badania wskazują, że częstość występowania jest niska, co skutkuje niższą wartością PPV (np. < 90%).” Szczegółowe informacje na temat dodatkowych badań i postępowania z pacjentem po uzyskaniu dodatniego wyniku testu przesiewowego znajdują się w wytycznych CDC (1).

<sup>2</sup> Rozkład wyników RLU znajduje się w Tabeli 3. Wielkość RLU nie jest wskaźnikiem poziomu obecności mikroorganizmu w próbce.

<sup>3</sup> W zakresie wyników dodatnich o niskim RLU, dane sugerują, że wyniki dodatnie należy interpretować ostrożnie, ze świadomością, że prawdopodobieństwo fałszywego wyniku dodatniego może być wyższe niż prawdziwego wyniku dodatniego.

### B. Wyniki kontroli jakości i akceptowalność

Kontrola ujemna Aptima dla GC, która jest oznaczona jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC” oraz kontrola dodatnia Aptima dla GC, która jest oznaczona jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”, działają jako kontrole dla etapów wychwytywania, amplifikacji i wykrywania cząsteczek szukanych w teście. Zgodnie z wytycznymi lub wymaganiami lokalnych, stanowych i/lub federalnych przepisów lub organizacji akredytujących, mogą być włączone dodatkowe kontrole dla lizy komórek i stabilizacji RNA. Kontrola dodatnia dla CT, która jest oznaczona jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT” zawiera niezakażony GC rRNA. W razie potrzeby dodatkowe elementy sterujące można zamówić jako zestaw. Prawidłowe przygotowanie próbek jest potwierdzone wizualnie poprzez obecność pojedynczej wymazówki do pobierania próbek Aptima w probówce do transportu próbek, końcowej objętości moczu pomiędzy czarnymi kreskami napełnienia probówki do transportu próbek moczu lub braku wymazówki w probówce do transportu próbek Aptima dla płynnych próbek Pap.

Kontrole dodatnie muszą dawać następujące wyniki badań:

Kontrola	Łączne RLU (x1000)	Wynik GC
Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC	0* oraz < 50	Ujemny
Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT	≥ 100 oraz < 12 000	Dodatni

\* Zerowy (0 x 1000) wynik RLU w raporcie z badania reprezentuje wartość pomiędzy zero a 999 RLU. Wartości RLU mniejsze niż 160 w systemach DTS lub 690 w systemach Tigris DTS lub Panther System będą zgłaszane jako nieważne.

1. Oprogramowanie testu Aptima automatycznie ocenia kontrole zgodnie z powyższymi kryteriami i sygnalizuje, że Seria ma stan PASS (ZALICZONA), jeśli spełnione są kryteria ważności serii, albo FAIL (NIEZALICZONA), jeśli kryteria kontroli serii nie są spełnione.
2. Jeśli wskazanie Run Status (Stan serii) jest równe FAIL (NIEZALICZONA), wszystkie wyniki testu w tej serii są nieważne i nie wolno ich zgłaszać.
3. Każde laboratorium powinno wdrożyć odpowiednie procedury kontrolne, aby spełnić wymagania przepisów CLIA (sekcja 493.1256).

**Uwaga:** Aby uzyskać pomoc dotyczącą kontroli poza zakresem w systemach DTS, patrz *Diagnostyka i usuwanie usterek lub skontaktuj się z działem pomocy technicznej firmy Hologic.*

4. Parametr systemu Tigris DTS pozwala każdemu ośrodkowi określić częstotliwość „pomocniczej serii kontrolnej”, dzięki której dodatkowe zestawy kontroli mogą być umieszczane w określonych odstępach w ramach listy roboczej. Jeśli ten parametr jest określony, system Tigris DTS będzie wymagał umieszczenia zestawu kontroli po określonej liczbie próbek grupy kontrolnej. System Tigris DTS automatycznie ocenia każdą kontrolę na liście roboczej zgodnie z powyższymi kryteriami i unieważnia wszystkie próbki w danej grupie kontrolnej, jeśli kryteria kontroli nie są spełnione. Dodatkowe informacje znajdują się w *Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS.*
5. Kontrole ujemne mogą nie być skuteczne w monitorowaniu losowego przenoszenia. Patrz *Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS*, aby zapoznać się z wynikami analitycznego badania przenoszenia o wysokim stężeniu cząsteczek szukanych, które przeprowadzono w celu wykazania kontroli przenoszenia w systemie Tigris DTS. Patrz *Skuteczność analityczna Panther System*, aby zapoznać się z wynikami analitycznego badania przenoszenia o wysokim stężeniu cząsteczek szukanych, które przeprowadzono w celu wykazania kontroli przenoszenia w Panther System.

#### C. Kontrola przygotowania próbki (opcjonalnie)

Kontrola ujemna Aptima dla GC, która jest oznaczona jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC” oraz Kontrola dodatnia Aptima dla GC, która jest oznaczona jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”, działają jako kontrole dla etapów wychwytywania, amplifikacji i wykrywania cząsteczek szukanych w teście i muszą znajdować się każdej serii testu. Jeśli jest to pożądane, kontrole dla lizy komórek i stabilizacji RNA mogą być testowane zgodnie z wymaganiami odpowiednich organizacji akredytujących lub indywidualnych procedur laboratoryjnych. Znane próbki dodatkowo mogą służyć jako kontrole poprzez ich przygotowanie i badanie w połączeniu z nieznanymi próbkami. Próbki używane jako kontrole przygotowawcze muszą być przechowywane, przenoszone i testowane zgodnie z ulotką dołączoną do opakowania. Kontrole przygotowania próbek powinny być interpretowane w taki sam sposób, jak opisano dla próbek testowych od pacjentów. Patrz *Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent, Wyniki badań pacjentów.*

## D. Wyniki badań pacjentów

1. Jeżeli kontrole w dowolnej serii nie przyniosą oczekiwanych wyników, wyniki testów na próbkach pobranych od pacjentów w tej samej serii nie mogą być zgłaszane.
2. Wyniki badań wymazów, moczu i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. Patrz *Uwagi* poniżej.
  - a. Wyniki wstępne

GC Dod.*	Dodatni dla rRNA GC.
GC Ujem.	Uznawany za ujemny dla rRNA GC.
GC Niejedn.	Próbkę należy przebadać ponownie.
Nieważny	Próbkę należy przebadać ponownie.

## b. Wyniki ponownego badania

GC Dod.*	Dodatni dla rRNA GC.
GC Ujem.	Uznawany za ujemny dla rRNA GC.
GC Niejedn.	Nieokreślony, należy pobrać nową próbkę.
Nieważny	Nieokreślony, należy pobrać nową próbkę.

\*Do tej kategorii zalicza się próbki dodatnie o niskim RLU. Patrz *Interpretacja testu – wyniki QC/Pacjent* powyżej.

*Uwagi*

- Pierwszy ważny, jednoznaczny wynik dla każdego analitu jest wynikiem, który powinien zostać zgłoszony.
- Przy interpretacji wyników testu Aptima GC u osób bezobjawowych lub jakichkolwiek osób w populacjach o niskiej częstości występowania zaleca się staranne rozważenie danych dotyczących skuteczności.
- Wynik ujemny nie wyklucza obecności zakażenia GC, ponieważ wyniki zależą od odpowiedniego pobrania próbki, braku inhibitorów i wystarczającej do wykrycia ilości rRNA. Na wyniki testu może mieć wpływ niewłaściwe pobranie próbki, niewłaściwe przechowywanie próbki, błąd techniczny, pomylenie próbek lub poziom cząsteczek szukanых poniżej granicy wykrywalności testu.
- Badanie próbki z kanału szyjki macicy jest zalecane u kobiet, u których klinicznie podejrzewa się infekcję chlamydialną lub gonokokową. Jeśli pobierane są zarówno próbki Pap, jak i wymaz z kanału szyjki macicy, płynną próbkę Pap w roztworze PreservCyt należy pobrać przed próbką wymazu z kanału szyjki macicy.

**Ograniczenia**

- A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie instrukcji przedstawionych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- B. Nie oceniano wpływu stosowania tamponów, irygacji oraz zmiennych związanych z pobieraniem próbek na wykrywanie GC.
- C. Obecność śluzu w próbkach pobranych z kanału szyjki macicy nie wpływa na wykrywanie GC przy użyciu testu Aptima GC. Jednakże, aby zapewnić prawidłowe pobranie próbki z kanału szyjki macicy, należy usunąć nadmiar śluzu.
- D. Pobieranie próbek moczu, wymazu z pochwy i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt nie zastępuje badania szyjki macicy i próbek z kanału szyjki macicy w diagnostyce infekcji układu moczowo-płciowego u kobiet. U pacjentek może wystąpić zapalenie szyjki macicy, zapalenie cewki moczowej, zakażenia dróg moczowych lub zakażenia pochwy spowodowane innymi czynnikami lub współistniejące zakażenia innymi czynnikami.
- E. Test Aptima GC nie służy do oceny podejrzeń o wykorzystywanie seksualne ani do innych wskazań medyczno-prawnych. Dla tych pacjentek, dla których fałszywie dodatni wynik może mieć niekorzystne skutki psychospołeczne, CDC zaleca ponowne badanie metodą z wykorzystaniem alternatywnej technologii (1).
- F. Wiarygodność wyników zależy od właściwego pobrania próbek. Ponieważ system transportowy używany na potrzeby tego testu nie umożliwia mikroskopowej oceny próbek pod kątem ich przydatności, niezbędne jest przeszkolenie lekarzy we właściwych technikach pobierania próbek. Patrz ulotka dołączona do opakowania odpowiedniego zestawu do pobierania próbek Aptima.
- G. Za pomocą testu Aptima GC nie można określić niepowodzenia lub sukcesu terapeutycznego, ponieważ kwas nukleinowy może utrzymywać się po zastosowaniu odpowiedniej terapii przeciwbakteryjnej.
- H. Wyniki testu Aptima GC należy interpretować w powiązaniu z innymi danymi laboratoryjnymi i klinicznymi dostępnymi dla lekarza.
- I. Wynik ujemny nie wyklucza możliwości wystąpienia infekcji, ponieważ wynik testu jest uzależniony od prawidłowego pobrania próbki. Na wyniki testu może mieć wpływ niewłaściwe pobranie próbki, błąd techniczny, pomylenie próbek lub poziom cząsteczek szukanych poniżej granicy wykrywalności testu.
- J. Wyniki testu Aptima GC mają charakter jakościowy. Dlatego nie można zakładać istnienia korelacji między intensywnością dodatniego sygnału w teście a liczbą mikroorganizmów w badanej próbce.
- K. W przypadku badań klinicznych wymazu z pochwy, wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej i próbek moczu, skuteczność w wykrywaniu GC jest oparta na populacjach o wysokiej częstości występowania. Dodatkowo wyniki w populacjach o niskiej częstości występowania należy interpretować ostrożnie, ze świadomością, że prawdopodobieństwo fałszywego wyniku dodatniego może być wyższe niż prawdziwego wyniku dodatniego.
- L. W przypadku badań klinicznych nad płynnymi próbkami Pap w roztworze PreservCyt, skuteczność testu Aptima GC w wykrywaniu GC została oparta głównie na populacjach o



- niskiej częstości występowania. Niemniej jednak, dodatnie wyniki w populacjach o niskiej częstości występowania należy interpretować ostrożnie, ze świadomością, że prawdopodobieństwo fałszywego wyniku dodatniego może być wyższe niż prawdziwego wyniku dodatniego.
- M. Skuteczność zestawu do przenoszenia próbek Aptima nie została oceniona w przypadku badania tej samej płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt zarówno przed, jak i po przetworzeniu Pap z użyciem ThinPrep.
  - N. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt, przetwarzane przy użyciu urządzeń innych niż urządzenie ThinPrep 2000, nie zostały ocenione pod kątem zastosowania w testach Aptima.
  - O. Próbki wymazu z pochwy pobrane przez pacjentki są opcją dla badań przesiewowych kobiet, gdy nie ma innych wskazań do badania miednicy.
  - P. Użycie próbki wymazu z pochwy pobranej przez pacjentkę jest ograniczone do placówek służby zdrowia, w których dostępne jest wsparcie/doradztwo w zakresie wyjaśnienia procedur i środków ostrożności.
  - Q. Test Aptima GC nie został zatwierdzony do stosowania z próbkami wymazów z pochwy pobranymi przez pacjentki w domu.
  - R. Skuteczność wyników dla próbki wymazu z pochwy nie ustalono u kobiet w ciąży.
  - S. Wyniki badania próbek wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i cewki moczowej mężczyzn, próbek moczu mężczyzn i kobiet oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt nie zostały ocenione u młodzieży w wieku poniżej 16 lat.
  - T. Badanie próbek wymazu z cewki moczowej pobranych od bezobjawowych mężczyzn nie jest zalecane ze względu na niską wartość predykcyjną wyniku dodatniego zaobserwowaną w badaniu klinicznym.
  - U. Skuteczność systemu Tigris DTS nie została sprawdzona na wysokościach powyżej 2240 m (7355 stóp) n.p.m. Przed lub w ramach procesu instalacji i odbioru w laboratoriach znajdujących się na wysokości powyżej 2240 m (7355 stóp) zostaną przeprowadzone dodatkowe weryfikacje objętościowe i badania specyficzne dla danego testu.
  - V. Skuteczność Panther System nie została sprawdzona na wysokościach powyżej 2000 m (6561 stóp) n.p.m.
  - W. Nie stwierdzono degradacji kwasów nukleinowych w roztworze PreservCyt. Jeżeli płynna próbka Pap w roztworze PreservCyt zawiera małą ilość materiału komórkowego GC, może dojść do nierównomiernego rozłożenia tego materiału komórkowego. Również, w porównaniu z bezpośrednim pobieraniem próbek przy użyciu podłoża transportowego do wymazów Aptima, dodatkowa objętość roztworu PreservCyt może być przyczyną większego rozcieńczenia materiału próbki. Czynniki te mogą mieć wpływ na możliwość wykrycia małej liczby mikroorganizmów w zebranych materiale. Jeśli ujemne wyniki badania próbki nie są zgodne z oceną kliniczną, może być konieczne pobranie nowej próbki.
  - X. Klienci muszą niezależnie zweryfikować proces przesyłania danych do systemu LIS.

## **Wyniki badania klinicznego**

Charakterystyka skuteczności testu Aptima GC została potwierdzona w dwóch badaniach klinicznych przeprowadzonych w Ameryce Północnej. W pierwszym badaniu klinicznym określono czułość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima GC, wykorzystując pobrane przez lekarza próbki wymazu z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej, próbki wymazu z pochwy pobrane przez pacjentki oraz próbki moczu kobiet i mężczyzn. W pierwszym badaniu oceniono również precyzję testu Aptima CT, gdy jest on wykonywany zgodnie z wytycznymi NCCLS (13). W drugim badaniu klinicznym określono czułość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima GC przy użyciu podłoża transportowego z roztworem PreservCyt (składnik systemu ThinPrep 2000). Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt zostały również ocenione pod kątem precyzji wewnątrzlaboratoryjnej przy użyciu testu Aptima GC.

## Wartości oczekiwane w systemie DTS

### Częstość występowania

Częstość występowania GC w populacjach pacjentów zależy od czynników ryzyka, takich jak wiek, płeć, obecność objawów, rodzaj ośrodka i metoda badania. Podsumowanie częstości występowania GC w Ameryce Północnej, według typu próbki określonego testem Aptima GC, zostało przedstawione w Tabeli 1 i 1a dla dwóch badań klinicznych. Opis skuteczności klinicznej wyników próbek znajduje się w sekcjach *Kliniczne badanie próbek wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej, wymazu z pochwy i próbki moczu* i *Badanie kliniczne płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt* w sekcji *Skuteczność kliniczna systemu DTS*.

Tabela 1: Częstość występowania *N. gonorrhoeae* w poszczególnych ośrodkach klinicznych i łącznie, określona na podstawie wyników testu Aptima GC

Ośrodek	% (l. dodatnich / l. badanych)											
	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/D		N/D		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/D		N/D		2,0	(1/49)	2,0	(1/49)	2,1	(1/48)	2,0	(1/51)
<b>Wszystkie</b>	16,2	(214/1318)	14,3	(189/1322)	5,9	(85/1452)	4,9	(72/1459)	5,8	(83/1434)	5,8	(84/1458)

**MS** = Wymaz z męskiej cewki moczowej; **MU** = Mocz mężczyzny; **FS** = Wymaz z kanału szyjki macicy; **FU** = Mocz kobiety; **PVS** = Wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę; **CVS** = Wymaz z pochwy pobrany przez lekarza.

Tabela 1a: Częstość występowania *N. gonorrhoeae* w poszczególnych ośrodkach klinicznych i łącznie, określona na podstawie wyników testu Aptima GC przy użyciu płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt:

Ośrodek	% (l. dodatnich / l. badanych)	
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>Wszystkie</b>	1,0	(16/1647)

### Dodatnie i ujemne wartości predykcyjne dla hipotetycznych wskaźników częstości występowania w Ameryce Północnej

Szacowane dodatnie i ujemne wartości predykcyjne (PPV i NPV) dla różnych hipotetycznych wskaźników częstości występowania przy użyciu testu Aptima GC przedstawiono w Tabeli 2. Obliczenia te oparte są na hipotetycznych wskaźnikach częstości występowania oraz ogólnej czułości i swoistości oszacowanych na podstawie stanu zakażenia pacjenta. Ogólna czułość i swoistość dla GC wynosiła odpowiednio 97,6% i 99,3% (Tabela 2). Rzeczywiste PPV i NPV

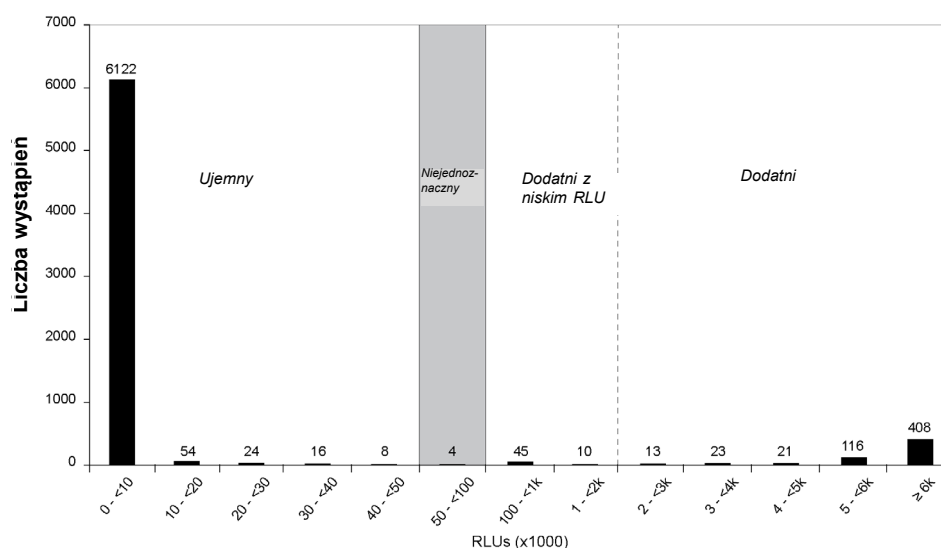
dla pobranych przez lekarzy wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej, wymazów z pochwy pobranych przez pacjentki oraz próbek moczu mężczyzn i kobiet zostały przedstawione w Tabeli 6 dla każdego ośrodka klinicznego i całościowo. Rzeczywiste wartości PPV i NPV dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt zostały przedstawione w Tabeli 6a.

Tabela 2: Dodatnie i ujemne wartości predykcyjne dla hipotetycznych wskaźników częstości występowania w Ameryce Północnej

Hipotetyczna częstość występowania (%)	Czułość (%)	Swoistość (%)	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

## Rozkład RLU dla testu Aptima GC

Rysunek 4 przedstawia rozkład RLU dla testu Aptima GC dla następujących typów próbek testowanych w badaniach klinicznych: od osób z objawami, pobranych przez lekarza próbek wymazu z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej oraz pobranych przez pacjentów próbek moczu kobiet i mężczyzn; oraz od osób bez objawów, pobranych przez lekarza próbek wymazu z kanału szyjki macicy i pochwy oraz pobranych przez pacjentów próbek wymazu z pochwy, moczu kobiet i mężczyzn. Tabela 3 podsumowuje rozkład RLU dla całkowitych wyników dodatnich i całkowitych wyników ujemnych, jak również wyników fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych dla tych typów próbek, w zależności od stanu zakażenia pacjenta. W przypadku niektórych rodzajów próbek istnieje tendencja do zwiększania się odsetka wyników prawdziwie dodatnich wraz ze wzrostem wartości RLU.



Rysunek 4. Częstość rozkładu RLU dla testu Aptima GC

Tabela 3: Rozkład RLU dla testu Aptima GC

	RLU (x 1000)												
	0 – < 10	10 – < 20	20 – < 30	30 – < 40	40 – < 50	50 – < 100	100 – < 1000	1000 – < 2000	2000 – < 3000	3000 – < 4000	4000 – < 5000	5000 – < 6000	≥ 6000
Ogółem dodatnie						-	45	10	13	23	21	116	408
Ogółem fałszywie dodatnie						-	35	6	2	4	0	3	0
CVS						1	5	3	0	1	0	2	0
PVS						0	2	0	0	1	0	1	0
FS						2	12	1	0	0	0	0	0
MS						1	9	0	1	0	0	0	0
FU						0	2	0	0	1	0	0	0
MU						0	5	2	1	1	0	0	0
Ogółem ujemne	6122	54	24	16	8	-							
Ogółem fałszywie ujemne	7	2	1	2	1	-							
CVS	2	0	0	0	0	-							
PVS	0	0	0	0	0	-							
FS	0	0	0	1	1	-							
MS	0	1	0	0	0	-							
FU	3	1	1	1	0	-							
MU	2	0	0	0	0	-							

**CVS** = Pobrane przez lekarza wymazy z pochwy; **PVS** = Pobrane przez pacjentkę wymazy z pochwy tylko u pacjentek bezobjawowych; **FS** = Wymaz z kanału szyjki macicy; **MS** = Wymaz z męskiej cewki moczowej u pacjentów objawowych; **FU** = Mocz kobiety; **MU** = Mocz mężczyzny.

Zacieniowana kolumna oznacza strefę niejednoznaczną.

## **Skuteczność kliniczna systemu DTS**

Patrz *Zgodność próbek klinicznych systemu Tigris DTS* po sekcji *Skuteczność analityczna systemu DTS*, aby uzyskać informacje o specyficznej dla systemu Tigris DTS skuteczności klinicznej.

### **Kliniczne badanie próbek wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej, wymazu z pochwy i próbki moczu**

Pobrane przez lekarzy wymazy z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej, wymazy z pochwy pobrane przez pacjentki oraz próbki moczu mężczyzn i kobiet zostały pobrane od 2787 objawowych i bezobjawowych mężczyzn i kobiet, korzystających z usług klinik OB/GYN, chorób przenoszonych drogą płciową (STD), nastolatków i planowania rodziny w ośmiu geograficznie zróżnicowanych ośrodkach klinicznych w Ameryce Północnej. Uczestnicy badania zostali zakwalifikowani do grupy objawowej, jeśli zgłaszali objawy takie jak upławy, dysuria i ból w miednicy małej. Uczestników zakwalifikowano jako bezobjawowych, jeśli nie zgłaszali objawów. Spośród 1392 bezobjawowych uczestników badania, 2 miało mniej niż 16 lat, 237 było w wieku od 16 do 20 lat, 423 było w wieku od 21 do 25 lat, a 730 było w wieku powyżej 25 lat. Spośród 1395 objawowych uczestników badania 211 było w wieku od 16 do 20 lat, 494 w wieku od 21 do 25 lat, a 690 w wieku powyżej 25 lat.

Trzy próbki pobrano od każdego z 1322 kwalifikujących się do badania mężczyzn. Pobrano pięć próbek od każdej z 1465 kwalifikujących się kobiet. U mężczyzn pobierano dwa losowe wymazy z cewki moczowej, a następnie jedną próbkę moczu. U kobiet pobrano jedną próbkę moczu, a następnie jeden wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę, jeden wymaz z pochwy pobrany przez lekarza i losowo dwa wymazy z kanału szyjki macicy. Z dwóch wymazów z pochwy, jednego wymazu z kanału szyjki macicy, jednego wymazu z męskiej cewki moczowej oraz próbki moczu mężczyzny i kobiety uzyskano wyniki testów Aptima GC i Aptima GC Combo 2. Pozostałe wymazy z kanału szyjki macicy, wymazy z męskiej cewki moczowej oraz próbki moczu mężczyzny i kobiety zostały zbadane przy użyciu innego komercyjnie dostępnego NAAT. Próbki wymazu z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej oraz próbki moczu mężczyzn i kobiet badane testem Aptima Combo 2 oraz innymi komercyjnie dostępnymi NAAT były używane jako referencyjne NAAT w celu określenia stanu zakażenia dla każdego uczestnika. Badanie próbek przeprowadzono albo w miejscu rejestracji uczestników, albo w zewnętrznym ośrodku badawczym.

Wszystkie obliczenia skuteczności opierały się na całkowitej liczbie wyników testów Aptima GC dla pobranych przez lekarza wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej oraz próbek moczu mężczyzn i kobiet w porównaniu z algorytmem stanu zakażenia pacjenta dla każdej płci. W algorytmie, określenie osoby jako zakażonej lub niezakażonej GC było oparte na wynikach badania wymazu i moczu przy użyciu komercyjnie dostępnego testu Aptima Combo 2 oraz innego komercyjnie dostępnego NAAT. Uczestników uznano za zakażonych GC, jeśli dwie z czterech próbek wymazu i moczu dały wynik dodatni w teście Aptima Combo 2 i innym referencyjnym teście NAAT (po jednej próbce dodatniej w każdym NAAT). Uczestników uznano za niezakażonych, jeśli mniej niż dwa referencyjne wyniki NAAT były dodatnie. Hodowla nie była wykorzystywana jako badanie referencyjne.

Do obliczenia czułości i swoistości wykorzystano łącznie 7653 wyniki testu Aptima GC. Czułość i swoistość dla GC w zależności od płci, typu próbki i stanu objawów przedstawiono w Tabeli 4. Tabela 6 przedstawia czułość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima GC w porównaniu ze stanem zakażenia pacjenta dla każdej lokalizacji klinicznej i całościowo. Tabele 7a - 7e podsumowują liczbę wyników uzyskanych od osób objawowych i bezobjawowych, zakwalifikowanych jako zakażone lub niezakażone GC zgodnie z algorytmem stanu zakażenia pacjenta.

Spośród 2 787 uczestników badania 15 osób miało nieznaną stan zakażenia GC. Uczestników oznaczono jako pacjentów o nieznanym stanie zakażenia, jeśli brakowało wyników, co

uniemożliwiało jednoznaczne określenie stanu zakażenia. Wyniki tych osób nie zostały uwzględnione w żadnych obliczeniach dotyczących skuteczności. Spośród 7704 wyników testu Aptima GC, 22 próbki (0,29%) dały początkowo nieważne lub niejednoznaczne wyniki. Po ponownym przebadaniu tych próbek, 4 pozostały niejednoznaczne i zostały wyłączone z analiz. Pozostałych 18 próbek uzyskało prawidłowe wyniki badań podczas ponownego testowania i zostały wykorzystane w obliczeniach skuteczności klinicznej.

Tabela 4: Czulość i swoistość testu Aptima GC w odniesieniu do stanu zakażenia pacjenta w zależności od stanu objawów i ogólnie dla wymazu z męskiej cewki moczowej, moczu mężczyzny, wymazu z kanału szyjki macicy, moczu kobiety, pobranego przez pacjentkę bezobjawową wymazu z pochwy i pobranego przez lekarza wymazu z pochwy.

Próbka	Stan objawów	N	TP	FP	TN	FN	Czulość (95% C.I.)		Swoistość (95% C.I.)		
Mężczyzna	Wymaz	Z objawami	575	171	10 <sup>a</sup>	393	1	99,4	(96,8 - 100)	97,5	(95,5 - 98,8)
		Mocz	Z objawami	576	171	4 <sup>b</sup>	400	1	99,4	(96,8 - 100)	99,0
	Bez objawów		745	9	5 <sup>c</sup>	730	1	90,0	(55,5 - 99,7)	99,3	(98,4 - 99,8)
	Wszystkie	1321	180	9 <sup>d</sup>	1130	2	98,9	(96,1 - 99,9)	99,2	(98,5 - 99,6)	
Kobieta	Wymaz	Z objawami	805	52	8 <sup>e</sup>	744	1	98,1	(89,9 - 100)	98,9	(97,9 - 99,5)
		Bez objawów	635	20	5 <sup>f</sup>	609	1	95,2	(76,2 - 99,9)	99,2	(98,1 - 99,7)
		Wszystkie	1440	72	13 <sup>g</sup>	1353	2	97,3	(90,6 - 99,7)	99,0	(98,4 - 99,5)
	Mocz	Z objawami	810	48	2 <sup>h</sup>	755	5	90,6	(79,3 - 96,9)	99,7	(99,0 - 100)
		Bez objawów	639	21	1 <sup>i</sup>	616	1	95,5	(77,2 - 99,9)	99,8	(99,1 - 100)
		Wszystkie	1449	69	3 <sup>j</sup>	1371	6	92,0	(83,4 - 97,0)	99,8	(99,4 - 100)
Pobrane przez pacjentkę	Wymaz z pochwy	Bez objawów	629	21	4 <sup>k</sup>	604	0	100	(83,9 - 100)	99,3	(98,3 - 99,8)
Pobrane przez lekarza	Wymaz z pochwy	Z objawami	809	52	7 <sup>m</sup>	749	1	98,1	(89,9 - 100)	99,1	(98,1 - 99,6)
		Bez objawów	637	21	4 <sup>n</sup>	611	1	95,5	(77,2 - 99,9)	99,3	(98,3 - 99,8)
		Wszystkie	1446	73	11 <sup>o</sup>	1360	2	97,3	(90,7 - 99,7)	99,2	(98,6 - 99,6)

TP = Prawdziwie dodatni; FP = Falszywie dodatni; TN = Prawdziwie ujemny; FN = Falszywie ujemny.

Wyniki testu GC Aptima Combo 2: L. wyników dodatnich / I. zbitych próbek 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.

## Badanie kliniczne płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Przeprowadzono prospektywne, wielośrodkowe badanie kliniczne w celu oceny zastosowania podłoża transportowego PreservCyt (składnik systemu ThinPrep 2000) jako alternatywnego podłoża dla próbek ginekologicznych do wykrywania *N. gonorrhoeae* testem Aptima GC. W badaniu klinicznym oceniono tysiąc sześćset czterdzieści siedem (1647) objawowych i bezobjawowych badanych, uczęszczających do klinik OB/GYN, planowania rodziny, zdrowia publicznego, kobiecych i STD. Spośród tych osób, które można było poddać badaniu, 1288 osób było bezobjawowych, a 359 osób było objawowych (Tabela 7e). Uczestników badania rekrutowano z ośrodków, w których częstość występowania GC wahała się od 0,0% do 5,0% (Tabela 6a).

Od każdej kwalifikującej się uczestniczki pobrano dwie próbki: jedną płynną próbkę Pap w PreservCyt i jedną próbkę wymazu z kanału szyjki macicy. Płynne próbki Pap w PreservCyt zostały pobrane za pomocą szpatułki / szczoteczki Cyto-brush lub szczoteczki przypominającej miotłkę do pobierania próbek z kanału szyjki macicy. Dystrybucja urządzeń do pobierania próbek z kanału szyjki macicy jest podsumowana w Tabeli 5 w podziale na miejsce pobrania próbki i całościowo.

Płynne próbki Pap w PreservCyt zostały przetworzone zgodnie z instrukcją obsługi urządzenia ThinPrep 2000 oraz ulotką dołączoną do zestawu do przenoszenia próbek

Aptima. Po przetworzeniu płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt za pomocą urządzenia ThinPrep 2000, próbka została przeniesiona do zestawu do przenoszenia próbek Aptima w celu wykonania badania testem Aptima GC.

Czułość i swoistość testu Aptima GC dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt została obliczona poprzez porównanie wyników z algorytmem stanu zakażenia pacjenta. Algorytm uwzględniał wyniki testów Aptima Combo 2 i Aptima GC w próbkach wymazów z kanału szyjki macicy. Aby stwierdzić, że pacjent jest zakażony, oba referencyjne testy NAAT musiały mieć wynik dodatni. Aby stwierdzić, że pacjent nie jest zakażony, co najmniej jeden wynik NAAT musiał być ujemny. Jeden niejednoznaczny wynik, który uzyskano z referencyjnego testu NAAT, został uznany za niezgodny z testem badanym w celu obliczenia skuteczności, a zatem pacjent został zaklasyfikowany jako niezakażony (n=1). Tabela 7e podsumowuje częstość występowania wyników testów dla próbek wymazu z kanału szyjki macicy badanych przy użyciu testów Aptima Combo 2 i Aptima GC.

Tabela 5a przedstawia czułość i swoistość testu Aptima GC w zależności od stanu objawów i całościowo. Ogólna czułość wyniosła 92,3% (12/13). U uczestników objawowych i bezobjawowych czułość wynosiła odpowiednio 100% (7/7) i 83,3% (5/6). Ogólna swoistość wyniosła 99,8% (1630/1634). U uczestników objawowych i bezobjawowych swoistość wynosiła odpowiednio 99,4% (350/352) i 99,8% (1280/1282).

Tabela 6a przedstawia czułość i swoistość testu Aptima GC w zależności od miejsca pobrania próbki i całościowo. Czułość wahała się od 80,0% do 100%. Swoistości wahały się od 99,0% do 100%.

Tabela 5: Rozkład urządzenia do pobierania próbek z kanału szyjki macicy używanego do pobierania płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Zastosowane urządzenie do pobierania próbek z kanału szyjki macicy	Ośrodek pobierania próbek klinicznych						Ogółem
	1	2	3	4	5	6	
Szpatułka / szczoteczka Cyto-brush	0	124	475	287	57	364	1307
Urządzenie typu miotełka	100	0	0	0	240	0	340

Tabela 5a: Czułość i swoistość testu Aptima GC w odniesieniu do stanu zakażenia pacjenta według stanu objawów i całościowo dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Objaw	Wynik testu Aptima GC z roztworem PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Czułość (%) (95% CI)	Swoistość (%) (95% CI)
Z objawami	Dodatni	7	0	0	2	100 (7/7) (59,0 – 100)	99,4 (350/352) (98,0 – 99,9)
	Ujemny	0	0	0	350		
	Ogółem	7	0	0	352		
Bez objawów	Dodatni	5	0	1 <sup>1</sup>	1	83,3 (5/6) (35,9 – 99,6)	99,8 (1280/1282) (99,4 – 100)
	Ujemny	1	0	5	1275		
	Ogółem	6	0	6	1276		
Wszystkie	Dodatni	12	0	1	3	92,3 (12/13) (64,0 – 99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4 – 99,9)
	Ujemny	1	0	5	1625		
	Ogółem	13	0	6	1628		

+/+ = Dodatni wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Dodatni wynik testu Aptima GC na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

+/- = Dodatni wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Ujemny wynik testu Aptima GC na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

-/+ = Ujemny wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Dodatni wynik testu Aptima GC na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

-/- = Ujemny wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Ujemny wynik testu Aptima GC na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

<sup>1</sup>Jedna próbka uzyskała wynik niezgodny: Niejednoznaczny wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Dodatni wynik testu Aptima GC na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.



Tabela 6: Czulość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima GC w odniesieniu do stanu zakażenia pacjenta w zależności od ośrodka klinicznego i ogólnie dla wymazu z męskiej cewki moczowej, moczu mężczyzny, wymazu z kanału szyjki macicy, moczu kobiety, pobranego przez pacjentkę bezobjawową wymazu z pochwy i pobranego przez lekarza wymazu z pochwy.

Próbka	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Cz. wyst. (%)	Czulość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)
Wymaz	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/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	4	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	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/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	<b>Wszystkie</b>	<b>575</b>	<b>171</b>	<b>10</b>	<b>393</b>	<b>1</b>	<b>29,9</b>	<b>99,4 (96,8 - 100)</b>	<b>97,5 (95,5 - 98,8)</b>	<b>94,5</b>	<b>99,7</b>
Mężczyzna	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/D	100 (39,8 - 100)	N/D	100
	4	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	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/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	<b>Wszystkie</b>	<b>1321</b>	<b>180</b>	<b>9</b>	<b>1130</b>	<b>2</b>	<b>13,8</b>	<b>98,9 (96,1 - 99,9)</b>	<b>99,2 (98,5 - 99,6)</b>	<b>95,2</b>	<b>99,8</b>
Kobieta	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/D	100 (96,4 - 100)	N/D	100
	8	48	1	0	47	0	2,1	100 (2,5 - 100)	100 (92,5 - 100)	100	100
	<b>Wszystkie</b>	<b>1440</b>	<b>72</b>	<b>13</b>	<b>1353</b>	<b>2</b>	<b>5,1</b>	<b>97,3 (90,6 - 99,7)</b>	<b>99,0 (98,4 - 99,5)</b>	<b>84,7</b>	<b>99,9</b>
Mocz	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/D	100 (96,4 - 100)	N/D	100
	8	49	1	0	48	0	2,0	100 (2,5 - 100)	100 (92,6 - 100)	100	100
	<b>Wszystkie</b>	<b>1449</b>	<b>69</b>	<b>3</b>	<b>1371</b>	<b>6</b>	<b>5,2</b>	<b>92,0 (83,4 - 97,0)</b>	<b>99,8 (99,4 - 100)</b>	<b>95,8</b>	<b>99,6</b>

Tabela 6: Czulość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima GC w odniesieniu do stanu zakażenia pacjenta w zależności od ośrodka klinicznego i ogólnie dla wymazu z męskiej cewki moczowej, moczu mężczyzny, wymazu z kanału szyjki macicy, moczu kobiety, pobranego przez pacjentkę bezobjawową wymazu z pochwy i pobranego przez lekarza wymazu z pochwy. (ciąg dalszy)

Próbka	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Cz. wyst. (%)	Czulość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)	
Pobrane przez pacjentkę	Wymaz z pochwy (bez objawów)	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/D	100 (94,7 - 100)	N/D	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	N/D	100 (91,8 - 100)	N/D	100
		<b>Wszystkie</b>	<b>629</b>	<b>21</b>	<b>4</b>	<b>604</b>	<b>0</b>	<b>3,3</b>	<b>100 (83,9 - 100)</b>	<b>99,3 (98,3 - 99,8)</b>	<b>84,0</b>	<b>100</b>
Pobrane przez lekarza	Wymaz z pochwy	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/D	100 (96,4 - 100)	N/D	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100 (2,5 - 100)	100 (92,7 - 100)	100	100
		<b>Wszystkie</b>	<b>1446</b>	<b>73</b>	<b>11</b>	<b>1360</b>	<b>2</b>	<b>5,2</b>	<b>97,3 (90,7 - 99,7)</b>	<b>99,2 (98,6 - 99,6)</b>	<b>86,9</b>	<b>99,9</b>

TP = Prawdziwie dodatni; FP = Falszywie dodatni; TN = Prawdziwie ujemny; FN = Falszywie ujemny.

Tabela 6a: Czulość, swoistość i wartość predykcyjna testu Aptima GC w odniesieniu do stanu zakażenia pacjenta w zależności od ośrodka klinicznego i całościowo dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Ośrodek	Wynik testu Aptima GC z roztworem PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Cz. wyst. (%)	Czulość (%) (95% C.I.)	Swoistość (%) (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)
1	Dodatni	5	0	0	0	5,0	100 (5/5) (47,8 – 100)	100 (95/95) (96,2 – 100)	100	100
	Ujemny	0	0	0	95					
	Ogółem	5	0	0	95					
2	Dodatni	1	0	0	0	0,8	100 (1/1) (2,5 – 100)	100 (123/123) (97,0 – 100)	100	100
	Ujemny	0	0	0	123					
	Ogółem	1	0	0	123					
3	Dodatni	4	0	0	0	1,1	80,0 (4/5) (28,4 – 99,5)	100 (470/470) (99,2 – 100)	100	99,8
	Ujemny	1	0	0	470					
	Ogółem	5	0	0	470					
4	Dodatni	1	0	0	3	0,3	100 (1/1) (2,5 – 100)	99,0 (283/286) (97,0 – 99,8)	25,0	100
	Ujemny	0	0	3	280					
	Ogółem	1	0	3	283					
5	Dodatni	0	0	0	0	0,0	N/D	100 (297/297) (98,8 – 100)	N/D	100
	Ujemny	0	0	0	297					
	Ogółem	0	0	0	297					
6	Dodatni	1	0	1 <sup>1</sup>	0	0,3	100 (1/1) (2,5 – 100)	99,7 (362/363) (98,5 – 100)	50,0	100
	Ujemny	0	0	2	360					
	Ogółem	1	0	3	360					
WSZYSTKIE	Dodatni	12	0	1	3	0,8	92,3 (12/13) (64,0 – 99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4 – 99,9)	75,0	99,9
	Ujemny	1	0	5	1625					
	Ogółem	13	0	6	1628					

N/D = Nie dotyczy.

+/+ = Dodatni wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Dodatni wynik testu Aptima GC na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

+/- = Dodatni wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Ujemny wynik testu Aptima GC na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

-/+ = Ujemny wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Dodatni wynik testu Aptima GC na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

-/- = Ujemny wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Ujemny wynik testu Aptima GC na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

<sup>1</sup>Jedna próbka uzyskała wynik niezgodny: Niejednoznaczny wynik testu Aptima Combo 2 na próbce wymazu z kanału szyjki macicy / Dodatni wynik testu Aptima GC na próbce wymazu z kanału szyjki macicy.

Tabela 7a: Wyniki testów dla wymazu z męskiej cewki moczowej u pacjentów objawowych od osób zakażonych lub niezakażonych *N. gonorrhoeae* w zależności od stanu zakażenia pacjenta

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC	Ogółem
	MS	MU	MS	MU	MS	
Zakażony	+	+	+	+	+	164
Zakażony	+	+	+	+	-	1
Zakażony	+	+	+	-	+	3
Zakażony	+	+	=	+	+	1
Zakażony	+	-	+	+	+	2
Zakażony	+	-	+	-	+	1
Niezakażony	+	-	-	-	+	2
Niezakażony	+	-	-	-	-	1
Niezakażony	-	+	-	-	+	1
Niezakażony	-	-	+	-	-	1
Niezakażony	-	-	-	+	-	2
Niezakażony	-	-	-	-	+	3
Niezakażony	-	-	-	-	+	2
Niezakażony	-	-	-	-	-	386
Niezakażony	-	-	-	-	=	1
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	1
Niezakażony	-	-	-	=	-	1
Niezakażony	-	-	=	-	-	1
Niezakażony	=	-	-	-	+	2
<b>Ogółem</b>						<b>576</b>

**N/D** = Próbkę nie została pobrana lub jest niedostępna do badania. Symbol równości (=) oznacza wynik niejednoznaczny lub nieokreślony w powtórnym badaniu. **MS** = Wymaz z męskiej cewki moczowej u pacjenta objawowego; **MU** = Mocz mężczyzny.

Tabela 7b: Wyniki testów dla moczu mężczyzny od osób zakażonych lub niezakażonych *N. gonorrhoeae* w zależności od stanu zakażenia pacjenta

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC	Stan objawów		Ogółem
	MS	MU	MS	MU	MU	Objaw.	Bezobj.	
Zakażony	+	+	+	+	+	164	8	172
Zakażony	+	+	+	+	+	1	0	1
Zakażony	+	+	+	-	+	3	1	4
Zakażony	+	+	=	+	+	1	0	1
Zakażony	+	-	+	+	+	2	0	2
Zakażony	+	-	+	-	-	1	1	2
Niezakażony	+	+	-	-	+	0	1	1
Niezakażony	+	-	-	-	-	2	13	15
Niezakażony	+	-	-	-	-	1	0	1
Niezakażony	-	+	-	-	+	1	0	1
Niezakażony	-	+	-	-	-	0	1	1
Niezakażony	-	-	+	-	-	1	1	2
Niezakażony	-	-	-	+	-	2	2	4
Niezakażony	-	-	-	-	+	3	1	4
Niezakażony	-	-	-	-	-	2	1	3
Niezakażony	-	-	-	-	+	0	3	3
Niezakażony	-	-	-	-	-	386	691	1077
Niezakażony	-	-	-	-	-	1	2	3
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	1	4	5
Niezakażony	-	-	-	=	-	1	4	5
Niezakażony	-	-	=	-	-	1	1	2
Niezakażony	-	=	-	-	-	0	1	1
Niezakażony	N/D	-	-	-	-	0	1	1
Niezakażony	=	-	-	-	-	2	6	8
Niezakażony	=	-	-	-	-	0	2	2
<b>Ogółem</b>						<b>576</b>	<b>745</b>	<b>1321</b>

**Objaw.** = Z objawami; **Bezobj.** = Bez objawów. **N/D** = Próbkę nie została pobrana lub jest niedostępna do badania. Symbol równości (=) oznacza wynik niejednoznaczny lub nieokreślony w powtórnym badaniu. **MS** = Wymaz z męskiej cewki moczowej; **MU** = Mocz mężczyzny.

Tabela 7c: Wyniki testów dla wymazu z kanału szyjki macicy i moczu kobiet zakażonych lub niezakażonych *N. gonorrhoeae* w zależności od stanu zakażenia pacjenta

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC		Stan objawów		Ogółem
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Objaw.	Bezobj.	
Zakażony	+	+	+	+	+	+	43	16	59
Zakażony	+	+	+	+	+	-	2	0	2
Zakażony	+	+	+	-	+	+	2	1	3
Zakażony	+	+	+	-	+	-	0	1	1
Zakażony	+	+	+	N/D	+	+	1	0	1
Zakażony	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Zakażony	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Zakażony	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Zakażony	+	-	+	-	+	+	0	1	1
Zakażony	+	-	+	-	+	-	2	0	2
Zakażony	-	+	+	+	-	+	1	0	1
Zakażony	-	+	-	+	-	+	0	1	1
Zakażony	-	+	-	+	=	+	0	1	1
Zakażony	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Niezakażony	+	-	-	-	+	-	4	1	5
Niezakażony	+	-	-	-	-	-	1	0	1
Niezakażony	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Niezakażony	-	-	+	-	+	-	1	0	1
Niezakażony	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Niezakażony	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Niezakażony	-	-	-	-	+	-	1	2	3
Niezakażony	-	-	-	-	-	+	1	0	1
Niezakażony	-	-	-	-	-	-	718	589	1307
Niezakażony	-	-	-	-	=	-	1	0	1
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	-	2	3	5
Niezakażony	-	-	-	=	-	-	11	11	22
Niezakażony	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Niezakażony	-	N/D	-	-	-	N/D	1	1	2
Niezakażony	N/D	-	-	-	N/D	-	5	4	9
Niezakażony	=	-	-	-	+	-	1	1	2
<b>Ogółem</b>							<b>811</b>	<b>640</b>	<b>1451</b>

**Objaw.** = Z objawami; **Bezobj.** = Bez objawów. **N/D** = Próbkę nie została pobrana lub jest niedostępna do badania. Symbol równości (=) oznacza wynik niejednoznaczny lub nieokreślony w powtórnym badaniu. **FS** = Wymaz z kanału szyjki macicy; **FU** = Mocz kobiety.

Tabela 7d: Wyniki testów dla wymazu z pochwy od osób zakażonych lub niezakażonych *N. gonorrhoeae* w zależności od stanu zakażenia pacjenta

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC		Stan objawów		Ogółem
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Objaw.	Bezobj.	
Zakażony	+	+	+	+	+	+	43	15	58
Zakażony	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Zakażony	+	+	+	+	-	-	1	0	1
Zakażony	+	+	+	+	N/D	+	0	1	1
Zakażony	+	+	+	-	+	+	2	2	4
Zakażony	+	+	+	N/D	+	+	1	0	1
Zakażony	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Zakażony	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Zakażony	+	-	+	+	+	+	1	0	1
Zakażony	+	-	+	-	+	+	2	1	3
Zakażony	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Zakażony	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Zakażony	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Zakażony	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Niezakażony	+	-	-	-	-	-	5	1	6
Niezakażony	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Niezakażony	-	-	+	-	+	+	1	0	1
Niezakażony	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Niezakażony	-	-	-	+	+	+	0	1	1
Niezakażony	-	-	-	+	-	-	2	1	3
Niezakażony	-	-	-	-	+	+	2	1	3
Niezakażony	-	-	-	-	+	-	3	1	4
Niezakażony	-	-	-	-	-	+	3	1	4
Niezakażony	-	-	-	-	-	-	696	577	1273
Niezakażony	-	-	-	-	-	N/D	0	1	1
Niezakażony	-	-	-	-	-	=	0	1	1
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	-	16	9	25
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	N/D	1	0	1
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	-	2	2	4
Niezakażony	-	-	-	N/D	N/D	-	0	1	1
Niezakażony	-	-	-	=	-	-	11	10	21
Niezakażony	-	-	-	=	-	N/D	0	1	1
Niezakażony	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Niezakażony	-	N/D	-	-	-	-	0	1	1
Niezakażony	-	N/D	-	-	N/D	N/D	1	0	1
Niezakażony	N/D	-	-	-	-	-	5	4	9
Niezakażony	=	-	-	-	-	-	1	1	2
<b>Ogółem</b>							<b>811</b>	<b>640</b>	<b>1451</b>

**Objaw.** = Z objawami; **Bezobj.** = Bez objawów. **N/D** = Próbkę nie została pobrana lub jest niedostępna do badania. Symbol równości (=) oznacza wynik niejednoznaczny lub nieokreślony w powtórny badaniu. **FS** = Wymaz z kanału szyjki macicy; **FU** = Mocz kobiety; **PVS** = Wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę; **CVS** = Wymaz z pochwy pobrany przez lekarza.

Tabela 7e: Wyniki testów na obecność *N. gonorrhoeae* dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt w badaniu klinicznym pacjentów o stanie zakażenia

Stan zakażenia pacjenta	Wymaz z kanału szyjki macicy		Stan objawów	
	Test Aptima Combo 2	Test Aptima GC	Z objawami	Bez objawów
Zakażony	Dodatni	Dodatni	7	6
Niezakażony	Ujemny	Ujemny	352	1276
Niezakażony	Ujemny	Dodatni	0	5
Niezakażony	Niejednoznaczny	Dodatni	0	1
<b>Ogółem</b>			<b>359</b>	<b>1288</b>

## Rozkład RLU dla kontroli Aptima

Rozkład RLU dla kontroli dodatniej Aptima, GC / kontroli ujemnej, CT i kontroli dodatniej Aptima, CT / kontroli ujemnej, GC ze wszystkich serii testu Aptima GC wykonanych podczas badania klinicznego próbek został przedstawiony w Tabeli 8.

Tabela 8: Rozkład RLU kontroli Aptima podczas badań klinicznych próbek, w tym wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy i męskiej cewki moczowej, próbek moczu mężczyzn i kobiet oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Kontrola	Statystyka	RLU (x1000)	
		Badanie kliniczne wymazów i próbek moczu	Badanie kliniczne płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt
Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT	N	193	218
	Średnia	5048	4561
	SD	1071	1295
	Wartość maksymalna	6765	6791
	75. percentyl	5763	5450
	Mediana	5175	4859
	25. percentyl	4645	3804
	Wartość minimalna	229	158
Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC	N	193	218
	Średnia	2,15	2,60
	SD	2,20	2,80
	Wartość maksymalna	20	29
	75. percentyl	2	3
	Mediana	2	2
	25. percentyl	1	2
	Wartość minimalna	0	1



## Badanie precyzji

Precyzja (tj. odtwarzalność) testu Aptima GC została oceniona w dwóch zewnętrznych ośrodkach klinicznych oraz w firmie Hologic. Precyzja testu Aptima GC została oceniona dla trzech partii zestawów Aptima GC, trzech ośrodków badawczych, sześciu operatorów i 108 serii testu Aptima GC. Dwóch operatorów w każdym z trzech ośrodków badawczych przeprowadziło łącznie sześć testów Aptima GC na partię zestawu, co daje łącznie 36 testów na partię zestawu. Każda seria składała się z 12-elementowego panelu precyzji zawierającego od 0 do 2433 fg/test na rRNA GC. Odtwarzalność została ustalona przy użyciu podłoża transportowego do wymazów z domieszką rRNA. Odtwarzalność podczas badania próbek wymazu i moczu zawierających mikroorganizm szukany nie została określona. Tabela 9 przedstawia dane RLU dot. precyzji w kategoriach Średniej, Odchylenia standardowego, Współczynnika zmienności (CV) i procentowej zgodności z oczekiwanymi wynikami dla obliczeń zmienności pomiędzy ośrodkami, pomiędzy operatorami, pomiędzy partiami, pomiędzy seriami i wewnątrz serii.

Tabela 9: Dane dotyczące precyzji testu Aptima GC przy użyciu 12-elementowego panelu precyzji zawierającego od 0 do 2433 fg/test na rRNA GC

Stężenie	N	Średnie RLU (x1000)	% zgodność	Wewnątrz serii		Pomiędzy ośrodkami		Pomiędzy partiami		Pomiędzy operatorami		Pomiędzy seriami	
				SD RLU (x1000)	CV (%)	SD RLU (x1000)	CV (%)	SD RLU (x1000)	CV (%)	SD RLU (x1000)	CV (%)	SD RLU (x1000)	CV (%)
Ujem. (0 fg/mL)	540	11,7	99,8	233,3	N/D	0	N/D	0	N/D	4,3	N/D	0	N/D
Niskie (608-625 fg/mL)	324	5574,4	99,7	617,2	11,1	189,2	3,4	518,1	9,3	311,3	5,6	527,4	9,5
Średnie (6 082 fg/mL)	108	6502,6	100	138,8	2,1	0	0,0	481,9	7,4	514,8	7,9	579,4	8,9
Wysokie (12 500 fg/mL)	324	6786,0	100	270,3	4,0	0	0,0	581,3	8,6	410,7	6,1	647,1	9,5

SD = Odchylenie standardowe; CV(%) = Procentowy współczynnik zmienności; % zgodność. = Procentowa zgodność.

N/D = nie dotyczy analitu ujemnego.

**Uwaga:** Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W takim przypadku zmienność mierzona za pomocą SD i %CV zostaje ustalona na zero (13).

Wewnątrzlaboratoryjną precyzję płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt dla testu Aptima GC określono poprzez dodanie do fiolek z roztworem PreservCyt 20 CFU GC na fiolet (0,1 CFU na reakcję) oraz 100 CFU GC na fiolet (0,5 CFU na reakcję). Fiolki zawierające 10 000 CFU GC na fiolet (50 CFU na reakcję) oraz fiolki bez dodatku roztworu PreservCyt były badane jako kontrola dodatnia i ujemna. Dziesięć fiolek z domieszką na każdym poziomie CFU i dziesięć fiolek bez domieszki rozdzielono między dwóch operatorów. Operatorzy wytrząsali fiolki, a następnie przenieśli 14 porcji (po 1,0 mL każda) z każdej fiołki do 14 probówek transportowych Aptima, zgodnie z ulotką dołączoną do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima. Operatorzy nie mieli wglądu w miana próbek. Każda z otrzymanych próbek Pap-STM została jednokrotnie przebadana w teście Aptima GC. Przeprowadzono w sumie pięć serii w okresie pięciu dni, uzyskując 140 wyników na każdym poziomie CFU: 0,1, 0,5 i 50. Uzyskano 136 prawidłowych wyników i 4 nieważne wyniki dla panelu kontroli ujemnych. Nieważne wyniki były spowodowane błędnym umieszczeniem TTU w Leader HC+. Wyniki zostały podsumowane w Tabeli 10.

Tabela 10: Dane dotyczące precyzji wewnątrzlaboratoryjnej testu Aptima GC z roztworem PreservCyt przy użyciu 4-elementowego panelu precyzji zawierającego od 0 do 500 CFU/mL komórek GC

Element panelu	CFU/mL PreservCyt	CFU/ rxn	n	Zgodne	% zgodność	Średnie RLU (x1000)	Dla operatora		Pomiędzy dniami		Pomiędzy operatorami		Ogółem	
							SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	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	1211,1	1031,3	85,2	169,8	14,0	150,4	12,4	1056,0	87,2
C	500	50	140	140	100	5636,8	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/D	0	N/D	0,3	N/D	0,6	N/D

\* Uzyskano cztery nieważne wyniki z powodu błędnie umieszczonego TTU w Leader HC+.

**Uwaga:** Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest niska. W takim przypadku zmienność mierzona za pomocą SD i %CV zostaje ustalona na zero (13). N/D = nie dotyczy ujemnego elementu panelu. Operator = Seria. Próbkę z rozbieżnymi wynikami zostały włączone do analizy zmienności sygnału.

## **Skuteczność analityczna systemu DTS**

Patrz *Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS* po sekcji *Zgodność próbek klinicznych systemu Tigris DTS*, aby uzyskać informacje o specyficznej dla systemu Tigris DTS skuteczności analitycznej.

Patrz *Skuteczność analityczna Panther System*, aby uzyskać informacje o specyficznej dla Panther System skuteczności analitycznej.

### **Czułość analityczna**

Czułość analityczna (granica wykrywalności) *N. gonorrhoeae* została ustalona poprzez bezpośrednie porównanie wartości rozcieńczania 51 różnych izolatów klinicznych w hodowli komórkowej oraz w teście Aptima GC. Czułość analityczna testu wynosi 50 CFU/test (362 CFU/wymaz, 250 CFU/mL moczu i 487,5 CFU/mL płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt).

### **Swoistość analityczna**

Łącznie, przy użyciu testu Aptima GC, oceniono 154 izolaty z hodowli. Wśród tych izolatów znalazło się 86 mikroorganizmów, które mogą być izolowane z dróg moczowo-płciowych oraz 68 dodatkowych, reprezentujących przekrój filogenetyczny mikroorganizmów. Wśród badanych mikroorganizmów znalazły się bakterie, grzyby, drożdże, pasożyty i wirusy. Wszystkie mikroorganizmy z wyjątkiem *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* i wirusów badano w dawce  $1,0 \times 10^6$  komórek/test w podłożu do transportu moczu KOVA-Trol, a 60 mikroorganizmów badano w podłożu do transportu wymazów. Mikroorganizmy Chlamydia i Neisseria były testowane w podłożu z roztworem PreservCyt. *C. psittaci* VR601 zbadano w dawce  $8,0 \times 10^4$  komórek/test, a *C. psittaci* VR125 zbadano w dawce  $1,0 \times 10^5$  komórek/test. *C. pneumoniae* zbadano w dawce  $4,0 \times 10^3$  komórek/test, a *U. urealyticum* zbadano w dawce  $6,7 \times 10^6$  komórek/test. Wirusy badano w następujący sposób: (a) wirus opryszczki pospolitej I:  $2,5 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/test, (b) wirus opryszczki pospolitej II:  $6,0 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/test, (c) wirus brodawczaka ludzkiego 16:  $2,9 \times 10^6$  kopii DNA/test oraz (d) wirus cytomegalii:  $4,8 \times 10^5$  komórek/test. Wykaz badanych mikroorganizmów znajduje się w Tabeli 11.

Tabela 11: Swoistość analityczna

Mikroorganizm	Mikroorganizm	Mikroorganizm
<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>	Wirus opryszczki pospolitej I	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Wirus opryszczki pospolitej II	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Ludzki wirus brodawczaka 16 (Papillomavirus)	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Kingella dentrificans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteriodes ureolyticus</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Bifidobacterium brevi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus jensonii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella pneumophila</i> (2)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida 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>	Serogrupa A N. meningitidis	<i>Streptococcus mutans</i>
Cytomegalowirus	Serogrupa B N. meningitidis	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	Serogrupa C N. meningitidis (4)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Derxia gummosa</i>	Serogrupa D N. meningitidis	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	Serogrupa Y N. meningitidis	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Serogrupa W135 N. meningitidis	<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) = liczba badanych szczepów.

Wszystkie badane mikroorganizmy dały wynik ujemny w teście Aptima GC.

## Substancje zakłócające

Poniższe substancje zakłócające zostały indywidualnie dodane do wymazów, płynnych próbek Pap w PreservCyt i/lub próbek moczu: 10% krwi, żel antykoncepcyjny, żel plemnikobójczy, środek nawilżający, środek znieczulający na hemoroidy, olejek do ciała, puder, krem przeciwgrzybiczy, lubrykanty dopochwowe, spray dla kobiet i leukocyty ( $1,0 \times 10^6$  komórek/mL). Poniższe substancje zakłócające zostały indywidualnie dodane do próbek moczu: 30% krwi, anality moczu, białko, glukoza, ketony, bilirubina, azotany, urobilinogen, pH 4 (kwaśne), pH 9 (zasadowe), leukocyty ( $1,0 \times 10^6$  komórek/mL), szczątki komórek, witaminy, minerały, acetaminofen, aspiryna i ibuprofen. Wszystkie zostały zbadane pod kątem potencjalnego zakłócenia testu przy braku i obecności GC przy szacowanym odpowiedniku rRNA wynoszącym 50 komórek GC/test (250 fg/test). Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu.

Nie zaobserwowano interferencji z żadną z badanych substancji. W teście Aptima GC nie zaobserwowano inhibitorów amplifikacji.

## Odzysk

Do próbek zawierających odpowiednik rRNA w ilości wynoszącej 50 komórek GC (250 fg) dodano *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus* oraz *Staphylococcus epidermidis* ( $1,0 \times 10^8$  komórek/test). Te domieszki nie zakłócały amplifikacji i wykrywania rRNA GC przy użyciu testu Aptima GC.

## Badania stabilności próbek

### A. Próbki wymazów i moczu

Dane potwierdzające zalecane warunki transportu i przechowywania próbek wymazów z kanału szyjki macicy, cewki moczowej i pochwy zostały wygenerowane na podstawie zbiorczych ujemnych próbek wymazów. Do zbiorczych próbek dodano GC w końcowym stężeniu około 50 CFU na reakcję. Próbki z domieszką przechowywano w temperaturze  $-70^{\circ}\text{C}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $4^{\circ}\text{C}$  i  $30^{\circ}\text{C}$ . Próbki badano w dwóch egzemplarzach w dniach 0, 20, 77 i 117. Wszystkie warunki badania były dodatnie dla GC przez cały czas i w każdej temperaturze.

Dane potwierdzające zalecane warunki transportu i przechowywania próbek moczu zostały wygenerowane na podstawie ujemnych próbek moczu kobiet i mężczyzn. Do próbek moczu dodano GC w końcowym stężeniu 100 CFU na reakcję. Próbki przechowywano w temperaturze  $30^{\circ}\text{C}$  przez 24 godziny przed dodaniem ich do podłoża transportowego do moczu (UTM). Próbki UTM następnie przechowywano w temperaturze  $4^{\circ}\text{C}$  i  $30^{\circ}\text{C}$  i badano w trzech egzemplarzach w dniach 1, 14, 32 i 35. Próbki UTM przechowywano w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$  i  $-70^{\circ}\text{C}$  i badano je w trzech egzemplarzach w dniach 1, 35 i 109. Wszystkie replikaty były dodatnie na GC z próbkami UTM przechowywanymi w temperaturze  $4^{\circ}\text{C}$  oraz  $-70^{\circ}\text{C}$ . Gdy próbki UTM były przechowywane w temperaturze  $30^{\circ}\text{C}$ , 94% replikatów dało wynik dodatni na GC w dniu 35. Gdy próbki UTM były przechowywane w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ , 98% replikatów dało wynik dodatni na GC w dniu 109.

### B. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt

Dane potwierdzające zalecane warunki transportu i przechowywania płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt zostały wygenerowane na podstawie ujemnych przetworzonych i nieprzetworzonych płynnych próbek Pap. W przypadku próbek nieprzetworzonych, po przechowywaniu w fiolce z cytologicznym roztworem PreservCyt, przebadano cztery pule próbek z roztworem PreservCyt. Do każdej puli próbek dodano 50-100 CFU GC/test, przechowywano je w temperaturze  $2^{\circ}\text{C}$ ,  $10^{\circ}\text{C}$  i  $30^{\circ}\text{C}$ , a następnie zbadano je w dniu

rozpoczęcia oraz w dniach 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 i 36. Wszystkie próbki z domieszką były dodatnie dla GC przez cały czas i w każdej temperaturze.

W przypadku próbek przetworzonych, cztery puli próbek w roztworze PreservCyt użyto do określenia stabilności przetworzonej próbki w temperaturze od 2°C do 30°C. Do każdej puli próbek ujemnych dodano 50-100 CFU GC/test, a następnie zbadano je w dniu rozpoczęcia. Przed przetworzeniem, próbki w roztworze PreservCyt przechowywano w temperaturze 30°C przez siedem (7) dni, aby zasymulować upływ czasu między pobraniem próbki, przetworzeniem Pap i wysłaniem do laboratorium mikrobiologicznego. Po siedmiu dniach w temperaturze 30°C, porcje o objętości 1 mL z każdej puli przeniesiono do probówki do przenoszenia próbek Aptima i zbadano je w dniu rozpoczęcia przed umieszczeniem w temperaturze 2°C, 10°C i 30°C. Przetworzone próbki następnie badano po 17 dniach przechowywania w temperaturze 30°C i 36 dniach przechowywania w temperaturze od 2°C do 10°C. Wszystkie próbki z domieszką były dodatnie dla GC przez cały czas i w każdej temperaturze.

Dane potwierdzające dłuższe warunki przechowywania zostały wygenerowane z czterech puli ujemnych przetworzonych próbek w roztworze PreservCyt, przebadanych w temperaturach poniżej zera. Do każdej puli dodano 50-100 CFU GC/test, a następnie zbadano je w dniu rozpoczęcia. Każdą pulę umieszczano najpierw w temperaturze 30°C na 14 dni, a następnie przechowywano w temperaturze -20°C lub -70°C przez 106 dni. Wszystkie próbki z domieszką były dodatnie dla GC przez cały czas i w każdej temperaturze.

C. Dodatkowe badanie stabilności próbki zamrożonej (w temperaturze -20°C)

Dane potwierdzające zalecane warunki przechowywania w temperaturze -20°C dla wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z cewki moczowej, wymazu z pochwy, moczu kobiet, moczu mężczyzn oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt zostały wygenerowane na podstawie 90 próbek każdego typu z wynikiem ujemnym, gdzie do 30 próbek dodano domieszkę GC w ilości 50 CFU na reakcję, do 30 próbek dodano domieszkę w ilości 5 CFU na reakcję i do 30 próbek nie dodano domieszki. Próbki przechowywano w temperaturze -20°C i badano je w dniach 0, 200 i 400. Wszystkie próbki z domieszką spełniły kryteria akceptacji wynoszące 95% zgodności z oczekiwanymi wynikami.

## **Zgodność próbek klinicznych systemu Tigris DTS**

### **Zgodność systemu Tigris DTS**

Zgodność pomiędzy wynikami testów Aptima GC wygenerowanymi przez w pełni zautomatyzowany system Tigris DTS i półautomatyczne systemy DTS została oceniona poprzez badanie wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej, moczu mężczyzn i kobiet, wymazu z pochwy oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. Każda z próbek klinicznych została przebadana indywidualnie przy użyciu testu Aptima GC, zarówno w systemie Tigris DTS, jak i systemie DTS w firmie Hologic. Kolejność badań nie była randomizowana. Próbki zidentyfikowane do włączenia do badań były badane na systemie Tigris DTS, a następnie na systemach DTS.

### **Badanie zgodności próbek klinicznych – Wymaz z kanału szyjki macicy, wymaz z męskiej cewki moczowej, mocz kobiet i mężczyzn, wymaz z pochwy oraz płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt**

Kobiety i mężczyźni uczęszczający do klinik STD, planowania rodziny oraz OB/GYN z ośmiu zróżnicowanych geograficznie miejsc o niskiej lub wysokiej częstości występowania GC dostarczyli wymaz z kanału szyjki macicy, wymaz z męskiej cewki moczowej, mocz kobiet i mężczyzn, wymaz z pochwy oraz płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt. Próbki zostały przesłane bezpośrednio do firmy Hologic w celu przeprowadzenia badań. W firmie Hologic próbki wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej oraz moczu mężczyzn i kobiet zostały najpierw przebadane przy użyciu testu Aptima Combo 2 w systemie Tigris DTS. Próbki wymazu z pochwy i płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt zostały przebadane przy użyciu testu Aptima Combo 2 w systemach DTS. Próbki z ostatecznymi nieważnymi lub niejednoznacznymi wynikami nie zostały wybrane do badania zgodności próbek klinicznych Aptima GC.

Do badań porównawczych pomiędzy systemem Tigris DTS i systemami DTS dla testu Aptima GC wybrano sto dwadzieścia dziewięć wymazów kobiecych (70 z kanału szyjki macicy i 59 z pochwy), 133 wymazy z męskiej cewki moczowej, 72 próbki moczu kobiet, 130 moczu mężczyzn oraz 51 płynnych próbek Pap z dodatnim i ujemnym wynikiem testu Aptima Combo 2 CT. Większość próbek (88 wymazów od kobiet, 93 wymazy od mężczyzn, 47 próbek moczu od kobiet, 70 moczu od mężczyzn i 34 płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt) włączonych do badań porównawczych pochodziło od osób z objawami chorobowymi. Próbki z początkowo nieważnymi lub niejednoznacznymi wynikami zostały ponownie przebadane przy użyciu tego samego systemu, na którym wygenerowano wynik. Trzy próbki moczu kobiet, 1 wymaz z pochwy i 1 wymaz z męskiej cewki moczowej miały początkowo niejednoznaczne wyniki w systemach DTS, po ponownym badaniu wszystkie uzyskały ważne wyniki. Jedna próbka moczu mężczyzny i 1 kobiety miały początkowo nieważne wyniki w systemie Tigris DTS, po ponownym zbadaniu oba wyniki były ważne.

Tabela 12 przedstawia zgodność wyników dodatnich, wyników ujemnych i ogólną dla wszystkich sparowanych wyników dla każdego typu próbki według stanu objawów. Próbki wymazów żeńskich (łącznie wymazy z kanału szyjki macicy i pochwy) nie są zrównoważone pod względem dodatnich i ujemnych próbek od osób z objawami, ale ogólna zgodność dla osób z objawami wynosiła 100%, dla osób bezobjawowych 97,6% (40/41), a dla „wszystkich” (łącznie objawowych i bezobjawowych) ogólna zgodność wynosiła 99,2% (128/129). W przypadku próbek wymazu z męskiej cewki moczowej, ogólna zgodność dla pacjentów z objawami, bezobjawowych i „wszystkich” wyniosła 100%. Dla próbek moczu kobiet, ogólna zgodność dla osób z objawami wynosiła 100%, dla osób bezobjawowych 96,0% (24/25), a dla „wszystkich” 98,6% (71/72).

Dla próbek moczu mężczyzn, ogólna zgodność dla osób z objawami wynosiła 98,6% (69/70), dla osób bezobjawowych 100%, a dla „wszystkich” 99,2% (129/130). W przypadku płynnych próbek Pap w PreservCyt, ogólna zgodność dla pacjentów z objawami, bezobjawowych i „wszystkich” wyniosła 100%. Ze względu na stosunkowo mniejszą liczbę próbek pobranych

od osób bezobjawowych, wyników tych nie można uogólniać na badania z użyciem Aptima GC w systemie Tigris DTS dla próbek pobranych od osób bezobjawowych.

Wartości szacunkowe skuteczności testu Aptima GC dla wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z pochwy, wymazu z męskiej cewki moczowej oraz próbek moczu mężczyzn i kobiet znajdują się w Tabeli 4, a dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt testowanych w systemach DTS – w Tabeli 5a. Wartości szacunkowe skuteczności klinicznej dla systemu Tigris DTS w przypadku wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z pochwy, wymazu z męskiej cewki moczowej, moczu mężczyzn i kobiet oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt powinny być podobne, biorąc pod uwagę zgodność wyników.

Tabela 12: Badanie zgodności próbek klinicznych: Zgodność wyników dodatnich, wyników ujemnych i całkowita według stanu objawów

Objaw	Próbka	Płeć	n	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris-	DTS- Tigris+	DTS- Tigris-	% zgodność wyników dodatnich (95% CI)	% zgodność wyników ujemnych (95% CI)	Ogólna % zgodność (95% CI)
	Wymaz	Kobieta*	88	55	0	0	33	100 (93,5-100)	100 (89,4-100)	100 (95,9-100)
		Mężczyzna	93	66	0	0	27	100 (94,6-100)	100 (87,2-100)	100 (96,1-100)
Objaw.	Mocz	Kobieta	47	24	0	0	23	100 (85,8-100)	100 (85,2-100)	100 (92,5-100)
		Mężczyzna	70	60	1	0	9	98,4 (91,2-100)	100 (66,4-100)	98,6 (92,3-100)
	PreservCyt	Kobieta	34	28	0	0	6	100 (87,7-100)	100 (54,1-100)	100 (89,7-100)
	Wymaz	Kobieta*	41	23	0	1 <sup>1</sup>	17	100 (85,2-100)	94,4 (72,7-99,9)	97,6 (87,1-99,9)
		Mężczyzna	40	7	0	0	33	100 (59,0-100)	100 (89,4-100)	100 (91,2-100)
Bezobj.	Mocz	Kobieta	25	9	0	1	15	100 (66,4-100)	93,8 (69,8-99,8)	96,0 (79,6-99,9)
		Mężczyzna	60	5	0	0	55	100 (47,8-100)	100 (93,5-100)	100 (94,0-100)
	PreservCyt	Kobieta	17	12	0	0	5	100 (73,5-100)	100 (47,8-100)	100 (80,5-100)
	Wymaz	Kobieta*	129	78	0	1 <sup>1</sup>	50	100 (95,4-100)	98,0 (89,6-100)	99,2 (95,8-100)
		Mężczyzna	133	73	0	0	60	100 (95,1-100)	100 (94,0-100)	100 (97,3-100)
Wszystkie	Mocz	Kobieta	72	33	0	1	38	100 (89,4-100)	97,4 (86,5-99,9)	98,6 (92,5-100)
		Mężczyzna	130	65	1	0	64	98,5 (91,8-100)	100 (94,4-100)	99,2 (95,8-100)
	PreservCyt	Kobieta	51	40	0	0	11	100 (91,2-100)	100 (71,5-100)	100 (93,0-100)

„+” oznacza wynik dodatni, „-” oznacza wynik ujemny, CI = przedział ufności.

\*Połączone próbki wymazu z kanału szyjki macicy i pochwy.

<sup>1</sup>Jeden brak zgodności w przypadku wymazu z pochwy.



## Badanie precyzji

Wpływ kilku czynników na zmienność wyników testów Aptima GC w systemie Tigris DTS został oceniony przy użyciu 12-elementowych paneli odtwarzalności STD. Elementy panelu zawierały od 0 do 250 000 fg rRNA GC/test. Panel zawierał elementy panelu ze stężeniami GC na poziomie wymaganej czułości analitycznej wynoszącej 250 fg rRNA GC/test.

Panele zostały przebadane w 1 zewnętrznym ośrodku badawczym oraz w firmie Hologic przy użyciu 2 partii odczynników analitycznych Aptima GC. W firmie Hologic 2 operatorów wykonywało po 3 prawidłowe listy robocze na każdą partię odczynnika na każdym z 2 urządzeń systemu Tigris DTS. W zewnętrznym ośrodku badawczym 2 operatorów wykonało po 3 prawidłowe listy robocze dla każdej partii odczynnika na 1 urządzeniu systemu Tigris DTS. Jedna lista robocza składała się z kontroli serii i sześciu 12-elementowych paneli. Próbkę z początkowymi nieważnymi lub niejednoznacznymi wynikami z ważnych list roboczych testów nie były ponownie badane. Jedenaście próbek miało ostatecznie nieważne wyniki i zostało wyłączonych z analiz odtwarzalności.

Odtwarzalność została określona poprzez obliczenie zgodności pomiędzy ostatecznymi wynikami testów a oczekiwanym wynikiem dla każdego elementu panelu. Odtwarzalność oceniano również poprzez obliczenie SD i współczynnika zmienności (CV) sygnału w odniesieniu do ośrodków, operatorów, partii i list roboczych. Nie obliczono współczynników CV dla elementów panelu ujemnych pod względem GC ze względu na niskie wartości sygnału, które teoretycznie mogłyby być równe zeru. Tabela 13 przedstawia wyniki odtwarzalności. Wszystkie wyniki testu Aptima GC w systemie Tigris DTS były zgodne z oczekiwanymi wynikami dla elementów panelu zawierających 0, 250, 25 000 i 250 000 fg rRNA GC/test. W przypadku elementów panelu zawierających 2500 fg rRNA GC/test, zgodność z oczekiwanymi wynikami wyniosła 99,8%. Wartości CV były mniejsze lub równe 9,0%. Dane te wskazują na dobrą odtwarzalność testu Aptima GC przy użyciu systemu Tigris DTS.

Tabela 13: Dane dotyczące precyzji systemu Tigris DTS

Stęż. (fg rRNA na test)	n	Średnie RLU (x1000)	% zgodność	Pomiędzy ośrodkami		Pomiędzy operatorami		Pomiędzy partiami		Pomiędzy listami roboczymi		W ramach listy roboczej	
				SD (x1000)	CV (%)	SD' (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
0	859 <sup>2</sup>	4,6	100	1,7	N/D	0,0	N/D	0,3	N/D	0,7	N/D	2,7	N/D
250	429 <sup>3</sup>	4148	100	236	5,7	170	4,1	212	5,1	94,9	2,3	222	5,3
2 500	429 <sup>4</sup>	5361	99,8	275	5,1	145	2,7	273	5,1	25,1	0,5	482	9,0
25 000	430 <sup>5</sup>	5871	100	325	5,5	163	2,8	303	5,2	106	1,8	176	3,0
250 000	431 <sup>6</sup>	6037	100	317	5,2	167	2,8	303	5,0	126	2,1	186	3,1

Stęż. = Stężenie, CV = Współczynnik zmienności, N/D = Nie dotyczy próbek ujemnych, RLU = Jednostki względne światła, SD = Odchylenie standardowe.

<sup>1</sup> Wartości SD i CV ustala się odpowiednio na 0 i 0,0%, zgodnie z modelem efektów losowych, jeżeli zmienność wynikająca z tego źródła w stosunku do błędów losowych lub zmienności innych źródeł jest liczbowo ujemna.

<sup>2</sup> Z analizy tej wyłączono 4 próbki ze względu na końcowe nieważne wyniki. Dodatkowo, w jednej liście roboczej brakowało po 1 replikacie elementu panelu GC-ujemnego.

<sup>3</sup> Z analizy tej wyłączono 3 próbki ze względu na końcowe nieważne wyniki.

<sup>4</sup> Z analizy tej wyłączono 2 próbki ze względu na końcowe nieważne wyniki. Dodatkowo, w dwóch listach roboczych brakowało po 1 replikacie elementu panelu z 2500 fg rRNA GC/test, a jedna lista robocza zawierała 1 dodatkowy replikat elementu panelu z 2500 fg rRNA GC/test.

<sup>5</sup> Z analizy tej wyłączono 2 próbki ze względu na końcowe nieważne wyniki. Dodatkowo, jedna lista robocza zawierała 1 dodatkowy replikat elementu panelu z 25 000 fg rRNA CG/test. Na tej samej liście roboczej brakowało 1 replikatu innego elementu panelu z 25 000 fg rRNA CG/test.

<sup>6</sup> Na jednej liście roboczej brakowało 1 replikatu elementu panelu z 250 000 fg rRNA CG/test.

Uwaga: Próbkę z nieprawidłowymi wynikami testu zostały wyłączone. Analiza zmienności sygnału obejmuje próbki z niezgodnymi wynikami.

## **Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS**

Skuteczność analityczna specyficzna dla Panther System opisana jest w sekcji *Skuteczność analityczna Panther System*.

### **Badanie równoważności czułości analitycznej**

Panele czułości w puli wymazów z kanału szyjki macicy, puli próbek z pochwy, puli próbek moczu i puli płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt zostały przygotowane przy GC w ilości 250 fg/test rRNA i przebadane w 60 replikatach w systemie Tigris DTS. Procentowa dodatniość (95% C.I.) w systemie Tigris DTS dla próbki wymazu z kanału szyjki macicy wyniosła 100% (95,1 - 100), dla próbki wymazu z pochwy wyniosła 100% (95,1 - 100), dla próbki moczu wyniosła 100% (95,1 - 100) oraz dla płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt wyniosła 100% (95,1 - 100).

### **Badanie panelu klinicznego z domieszką rRNA GC**

Badanie panelu klinicznego z domieszką rRNA GC oceniło zgodność pomiędzy dwoma systemami, wykorzystując sześć paneli klinicznych GC przygotowanych przez firmę Hologic, z domieszką od 0 do 250 000 fg rRNA/test GC. Panele kliniczne GC zostały utworzone na podstawie wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z pochwy, wymazu z cewki moczowej, moczu mężczyzn, moczu kobiet oraz płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt, które uzyskały ujemne wyniki testu Aptima GC na systemach DTS podczas testów w firmie Hologic. Próbki ujemne zostały połączone według typu próbki, z domieszką lub bez domieszki rRNA GC i pobrane jako replikaty dla każdego elementu panelu. Replikaty każdego z 6 elementów panelu z różnymi poziomami rRNA zostały połączone w celu stworzenia jednego panelu klinicznego dla każdego typu próbki. Każdy panel zawierał łącznie 132 replikaty.

Wstępne dane dla moczu mężczyzn i kobiet pokazują, że niektóre elementy panelu, które zawierają rRNA na poziomie poniżej deklarowanej czułości analitycznej, uzyskały nieoczekiwane wyniki ujemne w systemie Tigris DTS. Przeprowadzono dwa badania uzupełniające w celu wykazania i potwierdzenia zgodności z oczekiwanymi wynikami w panelach moczu mężczyzn i kobiet z domieszką. Oryginalny projekt badania łączył próbki ujemne w jedną pulę główną. Zmieniono projekt badania uzupełniającego dla próbek moczu mężczyzn i kobiet. Próbki zostały rozdzielone na potwierdzone ujemne mini-pule w celu utworzenia paneli dodatnich i ujemnych. Dla każdego panelu utworzono sto trzydzieści osiem replikatów.

Tabela 14 przedstawia procentową zgodność dla każdego poziomu rRNA w panelach zawierających wymazy z kanału szyjki macicy, wymazy z pochwy, wymazy z cewki moczowej, mocz mężczyzn, mocz kobiet i płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt, odpowiednio, z oczekiwanymi wynikami GC dla systemu Tigris DTS i dla systemów DTS. Zakres stężeń wynosił od 1 log poniżej do 3 log powyżej 250 fg rRNA/test dla GC. W Tabeli 14 przedstawiono również ogólne procentowe zgodności badania panelu klinicznego pomiędzy systemem Tigris DTS a systemami DTS.

Tabela 14: Badanie zgodności panelu klinicznego z domieszką rRNA GC

Próbka	Element panelu	Stężenie (fg rRNA/test)	Replikaty	% zgodność Tigris	% zgodność DTS	Całkowita % zgodność pomiędzy Tigris a DTS (95% CI)
<b>Kanał szyjki macicy</b>	Brak cząsteczek szukanych	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Bardzo niskie	25	30	100	100	
	Niskie	250	30	100	100	
	Średnie	2 500	30	100	100	
	Wysokie	250 000	30	100	100	
<b>Wymaz</b>	Brak cząsteczek szukanych	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Bardzo niskie	25	29*	100	100	
	Niskie	250	30	100	100	
	Średnie	2 500	30	100	100	
	Wysokie	250 000	30	100	100	
<b>Cewka moczowa</b>	Brak cząsteczek szukanych	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Bardzo niskie	25	30	100	100	
	Niskie	250	30	100	100	
	Średnie	2 500	30	100	100	
	Wysokie	250 000	30	100	100	
<b>Badanie początkowe</b>	Brak cząsteczek szukanych	0	12	100	100	91,7 (85,6-95,8)
	Bardzo niskie	25	30	63,3 (19/30)	100	
	Niskie	250	30	100	100	
	Średnie	2 500	30	100	100	
	Wysokie	250 000	30	100	100	
<b>Mocz mężczyzn</b>	Brak cząsteczek szukanych	0	18	100	100	100 (97,4-100)
	Bardzo niskie	25	30	100	100	
	Niskie	250	30	100	100	
	Średnie	2 500	30	100	100	
	Wysokie	250 000	30	100	100	
<b>Badania uzupełniające 2</b>	Brak cząsteczek szukanych	0	18	100	100	100 (97,4-100)
	Bardzo niskie	25	30	100	100	
	Niskie	250	30	100	100	
	Średnie	2 500	30	100	100	
	Wysokie	250 000	30	100	100	

\*Nie badano w obu systemach z powodu niewystarczającej objętości próbek

Tabela 14: Badanie zgodności panelu klinicznego z domieszką rRNA GC (ciąg dalszy)

Próbka	Element panelu	Stężenie (fg rRNA/test)	Replikaty	% zgodność Tigris	% zgodność DTS	Całkowita % zgodność pomiędzy Tigris a DTS (95% CI)
Badanie początkowe	Brak cząsteczek szukanych	0	12	100	100	75,8 (67,5-82,8)
	Bardzo niskie	25	30	13,3 (4/30)	100	
	Niskie	250	30	80 (24/30)	100	
	Średnie	2 500	30	100	100	
	Wysokie	250 000	30	100	100	
Mocz kobiet Badania uzupełniające 1	Brak cząsteczek szukanych	0	18	100	100	99,3 (96,0-100)
	Bardzo niskie	25	30	96,7 (29/30)	100	
	Niskie	250	30	100	100	
	Średnie	2 500	30	100	100	
	Wysokie	250 000	30	100	100	
Badania uzupełniające 2	Brak cząsteczek szukanych	0	18	100	100	97,8 (93,8-99,5)
	Bardzo niskie	25	30	90 (27/30)	100	
	Niskie	250	30	100	100	
	Średnie	2 500	30	100	100	
	Wysokie	250 000	30	100	100	
Płynna próbka Pap w PreservCyt	Brak cząsteczek szukanych	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Bardzo niskie	25	30	100	100	
	Niskie	250	30	100	100	
	Średnie	2 500	30	100	100	
	Wysokie	250 000	30	100	100	

\*Nie badano w obu systemach z powodu niewystarczającej objętości próbek

## Badanie równoważności swoistości analitycznej

Dla testu amplifikacji kwasu nukleinowego, analityczna swoistość w odniesieniu do poszczególnych mikroorganizmów jest w dużej mierze określona przez właściwości chemiczne testu (np. sekwencje oligonukleotydów), a nie przez platformę. Ponieważ odczynniki do testu Aptima GC w systemie Tigris DTS i systemach DTS są identyczne, badania swoistości analitycznej w systemie Tigris DTS zostały zaprojektowane tak, aby skupić się na najtrudniejszych izolatach hodowlanych. Wśród tych mikroorganizmów znalazły się te, o których wiadomo, że wchodzą w reakcje krzyżowe w innych testach amplifikacji. Z panelu mikroorganizmów w Tabeli 11 wyselekcjonowano 24 (dwadzieścia cztery) izolaty hodowlane, w tym 17 mikroorganizmy najbardziej zbliżone do GC. Wszystkie badane mikroorganizmy dały wyniki ujemne, z wyjątkiem jednego (1/648) wyniku fałszywie dodatniego. Zostało to zaobserwowane w przypadku *C. pneumoniae*, gdzie 1 replikat spośród 27 zbadanych dał wynik fałszywy. Powtórne badanie nie potwierdziło reaktywności krzyżowej z tym mikroorganizmem (*C. pneumoniae*), ponieważ nie zaobserwowano dodatnich wyników w 6 dodatkowych powtórzeniach testu.

## Badanie równoważności substancji zakłócających

Krew pełna, substancja powszechnie występująca w próbkach z układu moczowo-płciowego, o której wiadomo, że może zakłócać niektóre testy amplifikacji, została użyta w celu ustalenia, że system Tigris DTS toleruje podobne poziomy potencjalnie zakłócających substancji, jak systemy DTS. Świeżą krew dodano do puli wymazów klinicznych, wymazów z pochwy, moczu i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt, a następnie zbadano pod kątem potencjalnego zakłócania testu w nieobecności i obecności szukanego GC przy szacowanym odpowiedniku rRNA w ilości 50 CFU CG/test (250 fg/test). Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu. Próbkę badano na dwóch systemach Tigris DTS. Wszystkie próbki zawierające szukany kwas nukleinowy były dodatnie, gdy testowano je na poziomie 10% krwi w próbkach wymazów, próbkach wymazów z pochwy, próbkach Pap w roztworze PreservCyt i 30% krwi w próbkach moczu. Wszystkie próbki, które nie zawierały cząsteczek szukanых były ujemne dla GC. Wyniki te wskazują, że przy badanych poziomach krew pełna prawdopodobnie nie ma wpływu na wynik testu GC w systemie Tigris DTS.

## Badanie przenoszenia dla systemu Tigris DTS

Aby ustalić, że system Tigris DTS minimalizuje ryzyko fałszywie dodatnich wyników, wynikających z zanieczyszczenia przez przeniesienie, przeprowadzono badanie z wykorzystaniem paneli z domieszkami na trzech systemach Tigris DTS. W badaniu wykorzystano 20% próbek o wysokiej zawartości cząsteczek szukanых GC zawierających  $1,0 \times 10^9$  komórek/reakcję, które zostały losowo rozmieszczone wśród 80% próbek ujemnych zawierających podłoże do transportu wymazów. W badaniu przetestowano 576 próbek o wysokim poziomie cząsteczek szukanых i 2376 próbek ujemnych w trzech systemach Tigris DTS. Tabela 15 wykazuje, że ogólny wskaźnik przenoszenia wyniósł średnio 0,21% (5/2370). Łącznie 6 próbek ujemnych uznano za nieważne i zostały one wyłączone z obliczeń. Przeprowadzono oddzielną analizę na podzbiórce populacji badanej, składającej się z próbek ujemnych, które bezpośrednio następowaly po dodatnim wyniku dla próbki o wysokiej zawartości cząsteczek szukanых. Wskaźnik przenoszenia dla tego podzbioru populacji wyniósł średnio 0,95% (4/422). W przypadku wyników fałszywie dodatnich w tym podzbiórce, wskaźnik przenoszenia wyniósł od 0% do 2,16% we wszystkich trzech systemach Tigris DTS. Wyniki te pokazują, że zanieczyszczenie przez przenoszenie jest w systemie Tigris DTS zminimalizowane.

Tabela 15: Podsumowanie całkowitego przenoszenia w systemie Tigris DTS

Urządzenie	I. ważnych testów ujemnych	Łączna I. fałszywie dodatnich wyników na GC	% fałszywie dodatnich wyników na GC	Przedziały ufności (95% CI)
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>Wszystkie urządzenia</b>	2370	5	0,21	0,07 – 0,49

<sup>a</sup> W przypadku Tigris 1 nie odnotowano wyników fałszywie dodatnich w badaniu na GC bezpośrednio po uzyskaniu wyniku dodatniego w badaniu próbki o wysokiej zawartości cząsteczek szukanых.

<sup>b</sup> W przypadku Tigris 2 odnotowano jeden wynik fałszywie dodatni w badaniu na GC bezpośrednio po uzyskaniu wyniku dodatniego w badaniu próbki o wysokiej zawartości cząsteczek szukanых.

<sup>c</sup> W przypadku Tigris 3 odnotowano trzy wyniki fałszywie dodatnie w badaniu na GC bezpośrednio po uzyskaniu wyniku dodatniego w badaniu próbki o wysokiej zawartości cząsteczek szukanых.

## Skuteczność analityczna Panther System

### Badanie zgodności panelu klinicznego z domieszką

Do pojedynczych ujemnych próbek moczu dodano GC, aby stworzyć panel 120 próbek dodatnich GC. Do dodatnich na GC elementów panelu dodano mikroorganizmy w stężeniu 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL lub 1250 CFU/mL (25 fg/test, 250 fg/test lub 2500 fg/test). Dodatkowo pobrano 120 próbek moczu ujemnych na GC. Panele dodatnie i ujemne były testowane na trzech systemach Panther i trzech Tigris DTS. Procentowa zgodność wyników dodatnich pomiędzy Panther System a Tigris DTS wynosiła 100% przy niższym 95-procentowym przedziale ufności 98,9. Procentowa zgodność wyników ujemnych pomiędzy Panther System a systemami Tigris DTS wynosiła 100% przy niższym 95-procentowym przedziale ufności 98,9. Wyniki badania przedstawiono w Tabeli 16.

Tabela 16: Badanie zgodności panelu klinicznego z domieszką: Zgodność z oczekiwanymi wynikami na GC

Element panelu	Stężenie		Replikaty	Tigris % zgodność	Panther % zgodność
	CFU/mL	fg/test			
Bardzo niskie dodatnie	12,5	25	117	100	100
Niskie dodatnie	125	250	120	100	100
Średnie dodatnie	1 250	2500	120	100	100
Ujemne	0	0	360	100	100

Całkowita procentowa zgodność wyników dodatnich pomiędzy Tigris a Panther (95% CI): 100% (98,9-100).

Całkowita procentowa zgodność wyników ujemnych pomiędzy Tigris a Panther (95% CI): 100% (98,9-100).

### Badanie czułości analitycznej

Czułość analityczna testu Aptima GC została zbadana przy użyciu trzech reprezentatywnych matryc próbek. Był to mocz przetworzony za pomocą podłoża transportowego do moczu (UTM), płynna próbka Pap w roztworze PreservCyt rozcieńczona podłożem transportowym do wymazów (STM) oraz STM. Do puli tych trzech matryc dodano rRNA GC w następujących stężeniach: 25 fg/test, 250 fg/test i 2500 fg/test (odpowiedniki rRNA w ilości 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL lub 1250 CFU/mL). Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA: RNA/komórkę każdego mikroorganizmu. Panele te zostały przebadane na trzech urządzeniach Panther przy użyciu dwóch partii odczynników w replikatach po 96. Obliczono procentową zgodność wyników dodatnich. Zgodność z oczekiwanymi wynikami wynosiła 100% (95% CI 96,2-100%) dla wszystkich paneli moczu, 100% (95% CI 96,2-100%) dla wszystkich paneli płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt oraz 100% (95% CI 96,1-100%) dla wszystkich paneli STM. Czułość analityczna testu wynosi 125 CFU/mL.

## Badanie powtarzalności

Przeprowadzono ocenę precyzji testu Aptima GC dla trzech systemów Panther System i dwóch partii zestawów testów Aptima GC w okresie 24 dni. Panele zostały utworzone poprzez wprowadzenie rRNA GC do STM w stężeniach pokazanych w Tabeli 17. Operatorzy przeprowadzili dwie serie dziennie, badając każdy element panelu w dwóch replikatach na serię. Obliczono zgodność z oczekiwanym wynikiem i oszacowano precyzję zgodnie z wytycznymi NCCLS EP5-A2 (15). Całkowita liczba replikatów dla każdego panelu wyniosła 96. Tabela 17 przedstawia dane RLU dot. precyzji w kategoriach Średniej, Odchylenia standardowego, Współczynnika zmienności (CV), procentowej zgodności z oczekiwanymi wynikami oraz obliczenia zmienności pomiędzy urządzeniami, pomiędzy partiami, pomiędzy seriami i wewnątrz serii.

Tabela 17: Precyzja Panther System dla testu Aptima GC

Matryca	GC (CFU/mL)	N	Średnie RLU (x1000)	% zgodność	Pomiędzy urządzeniami		Pomiędzy partiami		Pomiędzy seriami		Wewnątrz serii		Ogółem	
					SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
STM	0	96	3	100	0	0	0	0	0	0	2,01	72,8	2	72,5
	12,5	96	3951	100	215,14	5,4	0	0	0	0	568,24	14,4	607,6	15,4
	125	95*	5839	100	370,17	6,3	0	0	0	0	772,58	13,2	856,7	14,7
	1250	96	6207	100	338,25	5,4	0	0	0	0	787,64	12,7	857,2	13,8
Mocz	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	3460	100	0	0	195,84	5,7	113,27	3,3	207,53	6	307	8,9
	125	96	6047	100	158,67	2,6	170,32	2,8	0	0	206,24	3,4	311	5,1
	1250	96	6737	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	3358	100	257,9	7,7	0	0	0	0	485,45	14,5	549,7	16,4
	125	96	5272	100	243,09	4,6	201,89	3,8	0	0	751,72	14,3	815,4	15,5
	1250	96	5945	100	355,95	6	51,06	0,9	0	0	759,35	12,8	840,2	14,1

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W tym przypadku SD = 0 i CV = 0%.

\* ilość (n) równa 95 wykazała 1 nieważny replikat spośród 96, których nie powtórzono.

## Swoistość analityczna

Nie badano swoistości analitycznej w urządzeniu Panther. Aby uzyskać więcej informacji o *Badanie równoważności swoistości analitycznej*, patrz *Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS*.

## Badanie równoważności substancji zakłócających

Krew, powszechnie występująca w próbkach z układu moczowo-płciowego, może zakłócać niektóre testy amplifikacji. W celu ustalenia stopnia oddziaływania krwi na Panther System w odniesieniu do tego potencjalnego czynnika zakłócającego użyto pełnej krwi. Świeżą krew dodawano do puli klinicznych próbek wymazów z pochwy, przetworzonych płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt lub próbek moczu, a następnie badano pod kątem potencjalnego wpływu na wynik testu w obecności i przy braku GC. Jako stężenie cząsteczek szukanych wykorzystano szacunkowy odpowiednik rRNA w ilości 125 CFU GC/mL (250 fg/test), ponieważ reprezentuje to czułość analityczną testu. Próbkę były badane w Panther System. Wszystkie próbki zawierające szukany kwas nukleinowy były dodatnie, gdy testowano je na poziomie 10% (obj./obj.) krwi w wymazach lub płynnych próbkach Pap w roztworze PreservCyt lub

30% (obj./obj.) krwi w próbkach moczu. Wszystkie próbki, które nie zawierały cząsteczek szukanych, zostały prawidłowo zidentyfikowane jako ujemne. Wyniki te są identyczne z tymi, które wykazano dla systemu Tigris DTS, gdy do próbek dodano te same ilości krwi. Krew dodana do próbek wymazu, próbek w roztworze PreservCyt i próbek moczu, w ilościach znacznie wyższych niż można by się spodziewać przy normalnym pobieraniu próbek, nie zakłóciła wyników uzyskanych z użyciem Panther System.

## Badanie przenoszenia dla Panther System

Aby ustalić, że Panther System minimalizuje ryzyko fałszywie dodatnich wyników, wynikających z zanieczyszczenia przez przeniesienie, przeprowadzono badanie analityczne na wielu seriach z wykorzystaniem paneli z domieszkami na trzech aparatach Panther System. Przenoszenie zostało ocenione przy użyciu około 20% próbek o wysokim mianie GC, rozproszonych pomiędzy próbkami ujemnymi. Serie zawierały skupiska wysoko dodatnich próbek ze skupiskami próbek ujemnych, jak również pojedyncze wysoko dodatnie próbki rozproszone w określonym wzorze w obrębie serii. Próbki o wysokim mianie zostały wykonane przy użyciu rRNA GC wprowadzonego do STM, aby uzyskać końcowe stężenie  $5 \times 10^5$  fg rRNA/reakcję (odpowiednik rRNA w ilości  $2,5 \times 10^5$  CFU/mL). Badanie przeprowadzono przy użyciu 5 serii na trzech systemach Panther System, z łączną liczbą 2923 próbek ujemnych. Ogólny wskaźnik przenoszenia wyniósł 0% przy przedziale 95% ufności wynoszącym 0-0,1%. Łącznie 17 próbek ujemnych z serii o wysokim mianie uznano za nieważne i zostały one wyłączone z obliczeń.

## Bibliografia

1. **Centra Kontroli i Prewencji Chorób.** 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. **51** (RR-15).
2. **Centra Kontroli i Prewencji Chorób.** 2119. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: Departament Zdrowia i Usług Społecznych USA. Listopad.
3. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs i 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 i 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, LUTY 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 i 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 i E. R. Alexander.** 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. NEJM **292**:1199-1205.
9. **Hook III, E. W. i H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal Infections in the Adult. str. 458. w K. Holmes i in. (wyd.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, N.Y.
10. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins i D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. J. Clin. Microbiol. **4**:288-295.
11. **Masi, A. T. i 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. Luty, 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 (tom 19, nr 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 (wydanie 2, tom 24, nr 25).



16. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes i 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), str. 856-862. w E. H. Lennette, i in. (wyd.), Manual of Clinical Microbiology, wyd. 4 American Society for Microbiology, Washington, D.C.
18. **Schachter, J. i 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 i 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 i 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 i 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 i 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 i 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.



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

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

Informacje kontaktowe w USA i międzynarodowe:

Dział obsługi klienta: +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com

Wsparcie techniczne: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Więcej informacji kontaktowych zamieszczono na stronie [www.hologic.com](http://www.hologic.com)

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep, Tigris i TMA są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub spółek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

eppendorf (stylizowany znak) i REPEATER są znakami towarowymi firmy Eppendorf AG.

KOVA-TROL jest znakiem towarowym firmy Hycor Biomedical, Inc.

RAININ jest znakiem towarowym firmy Rainin Instrument, LLC.

TECAN i FREEDOM EVO są znakami towarowymi firmy Tecan Group AG.

Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem USA, przedstawionym na stronie [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2003-2019 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

502185PL Wersja 009  
2019-10