

Test Aptima Combo 2™

Do diagnostyki *in vitro*.

Tylko na eksport poza USA.

Informacje ogólne	2
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	8
Interpretacja testu – Wyniki QC pacjenta	23
Ograniczenia	26
Oczekiwane wartości Aptima Combo 2	29
Skuteczność kliniczna testu Aptima Combo 2	31
Skuteczność analityczna testu Aptima Combo 2	53
Zgodność próbek klinicznych systemu Tigris DTS	57
Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS	63
Skuteczność analityczna Panther System	66
Bibliografia	72

Tigris™ DTS™

System Tigris DTS	10
Dostarczone odczynniki i materiały	10
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	11
Materiały opcjonalne	12
Procedura testu w systemie Tigris DTS	12
Uwagi dotyczące procedury	15

Panther™

Panther System	16
Dostarczone odczynniki i materiały	16
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	18
Materiały opcjonalne	19
Procedura testu w Panther System	19
Uwagi dotyczące procedury	22

Informacje ogólne

Przeznaczenie

Test Aptima Combo 2™ jest testem zawierającym sondę kwasu nukleinowego amplifikującą sekwencję szukaną, który wykorzystuje wychwytywanie cząsteczek szukanych do jakościowego wykrywania i różnicowania rybosomalnego RNA (rRNA) *in vitro* bakterii *Chlamydia trachomatis* (CT) i/lub *Neisseria gonorrhoeae* (GC) w celu ułatwienia diagnostyki chorób chlamydialnych i/lub gonokokowych przy użyciu systemu Tigris™ DTS™ lub Panther™ System, zgodnie z opisem. Test może być stosowany do badania następujących próbek pobranych zarówno od osób z objawami, jak i bez objawów: pobrane przez lekarza próbki wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy, męskiej cewki moczowej oraz gardła i odbytu mężczyzn i kobiet; pobrane przez pacjenta próbki wymazów z pochwy, gardła i odbytu mężczyzn i kobiet¹ oraz próbki moczu kobiet i mężczyzn. 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 i Systemu ThinPrep™ 5000.

¹Próbki 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 bakteriami *Chlamydia trachomatis* (CT) i *Neisseria gonorrhoeae* (GC) należą do najczęstszych zakażeń przenoszonych drogą płciową na całym świecie. W samych Stanach Zjednoczonych w 2018 roku do Centers for Disease Control zgłoszono łącznie 1 758 668 przypadków zakażeń CT (539,9 na 100 000 populacji) i 583 405 przypadków zakażeń GC (179,1 na 100 000 populacji) (9).

Bakterie z rodzaju Chlamydiae są nieruchliwymi, Gram-ujemnymi, zamkniętymi bakteriami wewnątrzkomórkowymi. Gatunek CT składa się z piętnastu serotypów (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 i L3), które mogą wywoływać choroby u ludzi (59). Serotypy od D do K są główną przyczyną zakażeń chlamydiami narządów płciowych u mężczyzn i kobiet (44). *C. trachomatis* może powodować niegonokokowe zapalenie cewki moczowej, zapalenie najądrzy, zapalenie prostaty, zapalenie szyjki macicy, ostre zapalenie jajowodów i zapalenie narządów miednicy (PID) (7, 24, 46, 47). Zakażenia *C. trachomatis* są często bezobjawowe, zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Dzieci urodzone przez zakażone matki są znacznie bardziej narażone na inkluzyjne zapalenie spojówek i chlamydialne zapalenie płuc (1, 17, 45).

W przeszłości w laboratoriach klinicznych stosowano kilka metod wykrywania CT, w tym hodowle komórkowe, bezpośrednie fluorescencyjne oznaczanie przeciwciał i testy immunoenzymatyczne. Nowsze metody wykrywania CT obejmują testy z bezpośrednim sondowaniem DNA oraz testy z sondą DNA z testem amplifikacji kwasu nukleinowego (NAAT). Hodowla komórkowa była kiedyś uważana za „złoty standard” w wykrywaniu CT. Hodowla jest dość specyficzna, ale publikacje naukowe wykazały, że technologie sond DNA NAAT mają wyższą czułość kliniczną niż hodowla (6, 14, 26, 50). Ze względu na niższą czułość kliniczną i zróżnicowane wyniki w różnych laboratoriach, hodowla została zastąpiona w wielu laboratoriach przez bezpośrednią sondę DNA i NAAT.

N. gonorrhoeae jest czynnikiem wywołującym chorobę rzeżączkową. *N. gonorrhoeae* są nieruchliwymi, gram-ujemnymi dwóinkami. Większość zakażeń rzeżączką to niepowikłane infekcje dolnych dróg płciowych, które mogą przebiegać bezobjawowo. Jednakże, nieleczone u kobiet infekcje mogą wzrastać i powodować PID. PID może objawiać się jako zapalenie

blony śluzowej macicy, zapalenie jajowodu, zapalenie otrzewnej miednicy i ropień jajowodowo-jajnikowy. U mężczyzn rzeżączka może zostać powikłana przez zapalenie najądrza. W rzadkich przypadkach może prowadzić do niepłodności (5). U mniejszego odsetka osób z zakażeniem gonokokowym może rozwinąć się rozsiane zakażenie gonokokowe (DGI) (23, 32).

Konwencjonalne rozpoznanie zakażenia GC wymaga izolacji mikroorganizmu na podłożach selektywnych lub obserwacji dwoinek w rozmazach barwionych metodą Grama (25). 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 (11, 28). Niehodowlane metody wykrywania GC obejmują bezpośrednie testy z sondą DNA oraz NAAT.

Pierwsza generacja NAAT dla CT i GC ma problemy technologiczne, które ograniczyły ich działanie. Problemy te obejmują uciążliwe przetwarzanie próbek oraz zahamowanie procesu pobierania próbek, co może prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych (10, 15, 20, 30, 41, 51, 57, 58). Test Aptima Combo 2 jest drugą generacją NAAT, która wykorzystuje technologie wychwytywania cząsteczek szukanych, amplifikację z mediacją transkrypcji (TMA) oraz test podwójnej kinetyki (DKA) w celu usprawnienia procesu przetwarzania próbek, amplifikacji szukanego rRNA i wykrywania amplikonu. Badania porównujące skuteczność i inhibicję próbek w różnych systemach amplifikacji wykazały korzyści technologii wychwytywania cząsteczek szukanych, TMA i DKA (12, 18). Test Aptima Combo 2 wykrywa jakościowo rRNA bakterii CT i/lub GC w pobranych przez lekarza próbkach z kanału szyjki macicy, płynnych próbkach Pap w roztworze PreservCyt, wymazach z pochwy, cewki moczowej mężczyzn oraz wymazach z gardła i odbytu mężczyzn i kobiet, próbkach pobranych przez pacjenta z pochwy oraz wymazach z gardła i odbytu mężczyzn i kobiet, a także w próbkach moczu kobiet i mężczyzn od osób z objawami i bez objawów.

W 2019 r. odkryto nowe warianty *C. trachomatis*, które zawierają mutacje punktowe wpływające na wykrywanie przez pierwotną wersję testu Aptima Combo 2 (22, 27, 42, 43, 55, 56). Warianty szczepów chlamydii z mutacjami wpływającymi na skuteczność testów diagnostycznych zostały opisane wcześniej (54) i są naturalnym produktem ewolucji bakterii. Zaktualizowana wersja testu Aptima Combo 2 zapewnia pokrycie detekcji dla wariantów szczepów *C. trachomatis*, które pojawiły się w 2019 roku.

Zasady procedury

Test Aptima Combo 2 łączy w sobie technologie wychwytywania cząsteczek szukanych, TMA i DKA. Próbki są pobierane i przenoszone do odpowiednich probówek przeznaczonych do ich transportu. Roztwory transportowe w tych probówkach uwalniają cząsteczki szukane RNA i chronią je przed degradacją podczas przechowywania. Jeśli test Aptima Combo 2 jest wykonywany w warunkach laboratoryjnych, szukane cząsteczki rRNA są izolowane z próbek przy użyciu oligomerów wychwytyjących drogą wychwytywania cząsteczek szukanych poprzez wykorzystanie mikrocząstek magnetycznych. Oligomery wychwytyjące zawierają sekwencje komplementarne do określonych regionów cząsteczek szukanych, a także ciąg reszt deoksyadenozyny. Dla każdej cząsteczki szukanej stosuje się oddzielny oligomer wychwytyjący. Podczas etapu hybrydyzacji regiony specyficzne dla sekwencji oligomerów wychwytyjących wiążą 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 wychwytywanie i cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząsteczkami magnetycznymi. Mikrocząstki, w tym wychwycone cząsteczki szukane z nimi związane, 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. Test Aptima Combo 2 replikuje specyficzny region 23S rRNA z CT i specyficzny region 16S rRNA z GC poprzez związki pośrednie DNA. Dla każdej cząsteczki szukanej stosowany jest unikalny zestaw starterów. Wykrywanie sekwencji produktu amplifikacji rRNA (amplikonu) uzyskuje się za pomocą hybrydyzacji kwasów nukleinowych. Komplementarne z regionem każdego amplikonu docelowego jednoniciowe sondy chemiluminescencyjnych DNA są znakowane różnymi cząsteczkami estru akrydynowego. Znakowana sonda DNA łączy się z amplikonem, tworząc stabilne hybrydy RNA:DNA. Odczynnik selekcyjny odróżnia sondę zhybrydyzowaną od niezhybrydyzowanej, 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). W DKA różnice w profilach kinetycznych znakowanych sond CT i GC pozwalają na różnicowanie sygnału; profile kinetyczne są uzyskiwane z pomiarów ilości fotonów w czasie odczytu detekcji. Reakcja detekcji chemiluminescencyjnej dla sygnału CT charakteryzuje się bardzo szybką kinetyką i typem kinetycznym „sygnał błyskowy” (ang. flasher). Reakcja detekcji chemiluminescencyjnej dla sygnału GC jest stosunkowo wolniejsza i ma typ kinetyczny „sygnał żarowy” (ang. glower). Wyniki testu określa się na podstawie wartości granicznej opartej na całkowitej RLU i typie krzywej kinetycznej.

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 systemu Tigris DTS*.
- 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. Test nie został oceniony w populacjach pacjentów z niską częstością występowania choroby CT; dlatego nie określono skuteczności w warunkach niskiej częstości występowania.
- F. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- G. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikiem zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikiem zestawu.

- H. **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. Jeśli płyn się rozleje, należy rozcieńczyć go wodą, po czym wytrzeć do sucha.
- I. 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).

Kwestie dotyczące próbek

- J. Test został zbadany przy użyciu pobranych przez lekarza próbek z kanału szyjki macicy, płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt, wymazów z pochwy, cewki moczowej mężczyzn oraz wymazów z gardła i odbytu mężczyzn i kobiet; próbek pobranych przez pacjentkę z pochwy, wymazów z gardła i odbytu mężczyzn i kobiet oraz próbek moczu. Skuteczność na próbkach innych niż określone w sekcji *Pobieranie i przechowywanie próbek* nie została oceniona.
- Laboratoria mogą zatwierdzić inne urządzenia do pobierania próbek (33, 36).
- Próbki ginekologiczne pobierane do przygotowania przy użyciu Systemu ThinPrep 2000 lub Systemu ThinPrep 5000 należy pobierać przy użyciu urządzeń do pobierania próbek typu miotełka lub szczoteczka wewnętrznyjkiowa / plastikowa szpatułka.
- K. 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.
- L. Roztwór PreservCyt został zatwierdzony jako alternatywne podłoże do badań z użyciem testu Aptima Combo 2. Roztwór PreservCyt do badania płynnych próbek Pap przetworzonych przy użyciu urządzenia ThinPrep 3000 Processor lub innych urządzeń nie został oceniony pod kątem wykrywania *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* przy użyciu testu Aptima Combo 2.
- M. 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.
- N. W trakcie transportu próbek zapewnić prawidłowe warunki przechowywania, pozwoli to zachować ich prawidłowy stan. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- O. 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.
- P. W czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie mikroorganizmów. Należy dopilnować, aby pojemniki na próbki nie stykały się ze sobą, a zużyte materiały wyrzucić bez przesuwania ich nad jakimikolwiek otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.

- Q. Jeżeli w próbówce 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 wymazówki należy sprawdzić, czy nie jest to próbka do przenoszenia próbek firmy Aptima™, ponieważ nie będzie ona zawierać wymazówki.
- R. W przypadku płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt należy pobierać próbki zgodnie z instrukcjami producenta. Porcje następnie wyjmowane z fiolki PreservCyt do badania przy użyciu testu Aptima Combo 2 należy przetwarzać wyłącznie przy użyciu zestawu do przenoszenia próbek Aptima.
- S. W pewnych warunkach po przekłuciu spod zakrętek probówek transportowych Aptima może uwolnić się płyn. Aby temu zapobiec, należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w odpowiedniej *Procedurze testu*.

Kwestie dotyczące testu

- T. Skuteczność testu Aptima Combo 2 nie została oceniona u nastolatków w wieku poniżej 14 lat.
- U. Nie należy używać zestawu po upływie terminu ważności.
- V. **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.

	Odczynnik olejowy Aptima <i>Poli(dimetylosiloksan) 100%</i>
	OSTRZEŻENIE H315 – Działa drażniąco na skórę H319 – Działa drażniąco na oczy
	Odczynnik selekcyjny Kwas borowy 1-5% Wodorotlenek sodu < 1%
	OSTRZEŻENIE H315 – Działa drażniąco na skórę H319 – Działa drażniąco na oczy
	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych <i>EDTA 1-5%</i>
	H411 – Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki P273 – Unikać uwolnienia do środowiska P280 – Stosować ochronę oczu / ochronę twarzy

Uwaga: Stosowane informacje dotyczące zagrożeń są określone przez klasyfikacje kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheets, SDS) obowiązujące w UE. Informacje dotyczące zagrożeń występujących w konkretnym regionie opisano w kartach SDS właściwych dla regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem www.hologicds.com.

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 do testu Aptima Combo 2
 - Odczynnik enzymatyczny do testu Aptima Combo 2

- Odczynnik-sonda do testu Aptima Combo 2
Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B do testu Aptima Combo 2
Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC APTIMA
Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT APTIMA
- B. Poniższe odczynniki są stabilne, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C:
Roztwór do przygotowania odczynników amplifikacji do testu Aptima Combo 2
Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych do testu Aptima Combo 2
Roztwór do przygotowania odczynników-sond do testu Aptima Combo 2
Odczynnik selekcyjny do testu Aptima Combo 2
- C. Poniższe odczynniki są stabilne, jeśli są przechowywane w temperaturze od 15°C do 30°C (temperatura pokojowa):
Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych
Roztwór do płukania Aptima
Bufor do płynu dezaktywującego Aptima
Odczynnik olejowy Aptima
- D. Roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych (Working Target Capture Reagent, odczynnik wTCR) zachowuje stabilność przez 30 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 i odczynnik-sonda są stabilne przez 30 dni, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C.
- F. Niewykorzystane przygotowane odczynniki oraz odczynnik wTCR wyrzucić po 30 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 przechowywane w systemie Tigris DTS zachowują stabilność przez 48 godzin.
- I. Odczynniki przechowywane w Panther System zachowują stabilność przez 72 godziny.
- J. Odczynnik-sonda oraz przygotowany odczynnik-sonda są wrażliwe na światło. Przechowywane odczynniki należy chronić przed ekspozycją na światło. Określona stabilność po przygotowaniu jest oparta na 12-godzinnej ekspozycji przygotowanego odczynnika-sondy na dwie żarówki fluorescencyjne o mocy 60 W, w odległości 43 cm (17 cali) i temperaturze poniżej 30°C. Należy odpowiednio ograniczyć ekspozycję na światło przygotowanego odczynnika-sondy.
- 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 Combo 2 został zaprojektowany do wykrywania CT i GC w następujących próbkach: pobranych przez lekarza próbkach z kanału szyjki macicy, płynnych próbkach Pap w roztworze PreservCyt, wymazach z pochwy, cewki moczowej mężczyzn oraz wymazach z gardła i odbytu mężczyzn i kobiet, próbkach pobranych przez pacjentkę z pochwy, wymazach z gardła i odbytu mężczyzn i kobiet oraz próbkach moczu. 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 wymazu należy go przetransportować i przechowywać w probówce do transportu próbek wymazów w temperaturze od 2°C do 30°C do czasu wykonania badania. Próbki należy zbadać za pomocą Test Aptima Combo 2 w ciągu 60 dni od pobrania. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, zamrozić je 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 głównym pojemniku do zbiórki należy przetransportować do laboratorium w temperaturze od 2°C do 30°C. Przenieść próbkę moczu do probówki 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 przetransportować przetworzoną próbkę moczu w probówce do transportu próbek moczu Aptima w temperaturze od 2°C do 30°C i przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C do czasu badania. Przetworzone próbki moczu należy zbadać za pomocą Test Aptima Combo 2 w ciągu 30 dni od pobrania. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, zamrozić je 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 w kierunku obecności CT i/lub GC należy przetworzyć do badań cytologicznych i/lub przenieść do probówki 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 *Instrukcją obsługi urządzenia ThinPrep 2000, ThinPrep 3000 lub ThinPrep 5000 – Dodatek*, aby uzyskać instrukcje dotyczące wyjmowania porcji. Przenieść 1 mL wyjętej porcji do probówki 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. W przypadku badania próbki po użyciu urządzenia ThinPrep 5000, należy przetworzyć płynną próbkę Pap w roztworze PreservCyt zgodnie z *Instrukcją obsługi urządzenia ThinPrep 5000* i ulotką dołączoną do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima. Przenieść 1 mL płynu pozostałego we fiolce z roztworem PreservCyt do próbówki 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 próbówki do przenoszenia próbek Aptima, próbkę należy zbadać testem Aptima Combo 2 w ciągu 30 dni, jeśli jest przechowywana w temperaturze od 2°C do 8°C lub 14 dni, jeśli jest przechowywana 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 przepuszczalną zakrętkę i nałożyć nową nieprzepuszczalną zakrętkę 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 i ponownie zamkniętych próbek, probówki do transportu próbek należy wirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa), aby całość cieczy znalazła się na dnie próbówki. **Unikać rozpryskiwania i zanieczyszczenia krzyżowego.**

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

System Tigris DTS

Poniżej wymieniono odczynniki potrzebne do wykonania testu Aptima Combo 2 na obecność CT i GC w systemie Tigris DTS. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Dostarczone odczynniki i materiały

Zestaw testów Aptima Combo 2, 250 testów (2 pudełka i 1 zestaw kontroli)
(kat. nr PRD-05572 i PRD-05572B)

Pudełko chłodnicze Aptima Combo 2 (1 z 2)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	Odczynnik amplifikacji do testu Aptima Combo 2 <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym < 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
E	Odczynnik enzymatyczny do testu Aptima Combo 2 <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym < 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
P	Odczynnik-sonda do testu Aptima Combo 2 <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 fiolka
TCR-B	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B do testu Aptima Combo 2 <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 x 0,61 mL

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

Symbol	Element	Liczba sztuk
AR	Roztwór do przygotowania odczynników amplifikacji do testu Aptima Combo 2 <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 x 27,7 mL
ER	Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych do testu Aptima Combo 2 <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 11,1 mL
PR	Roztwór do przygotowania odczynników-sond do testu Aptima Combo 2 <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający < 5% detergentu.</i>	1 x 35,4 mL
S	Odczynnik selekcyjny do testu Aptima Combo 2 <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 x 108 mL
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych do testu Aptima Combo 2 <i>Buforowany roztwór soli zawierający fazę stałą i oligomery wychwytyjące.</i>	1 x 54 mL
	Kołnierze do przygotowania odczynników	3
	Karta z kodami kreskowymi partii głównych	1 karta

Zestaw kontroli Aptima

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

Symbol	Element	Liczba sztuk
PCT/NGC	Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC Aptima <i>Niezakaźny kwas nukleinowy CT w buforowanym roztworze zawierającym < 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
PGC/NCT	Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT Aptima <i>Niezakaźny kwas nukleinowy GC w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA 50 komórek GC (250 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>	104772-02
<i>Zestaw worków na zużyte końcówki zasysające do MTU</i>	900907
<i>Ostony pojemników na odpady MTU</i>	900931
<i>Pokrywy pojemników na odpady MTU</i>	105523
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	—

	<u>Kat. Nr</u>
Wzorzec kalibracji SysCheck	301078
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Zapasowe zakrętki do zestawów z 250 testami	—
<i>Roztwory do przygotowania odczynnika amplifikacji i odczynnika-sondy</i>	<i>CL0041 (100 zakrętek)</i>
<i>Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego</i>	<i>501616 (100 zakrętek)</i>
<i>Odczynnik selekcyjny i TCR</i>	<i>CL0040 (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

- 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

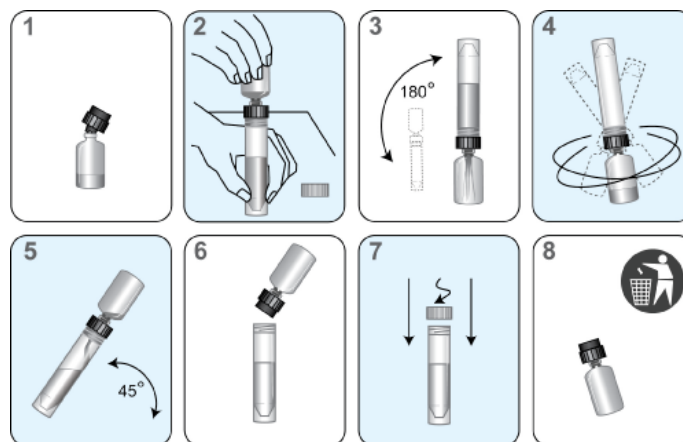
Uwaga: Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w systemie Tigris DTS.

- Aby przygotować odczynniki amplifikacji, odczynniki enzymatyczne i odczynniki-sondy, 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.
 - 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.
 - 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 1, etap 1).
 - 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 1, etap 2).
- f. Powoli odwrócić połączone buteleczki. Poczekać, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 1, 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 1, 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 1, etap 5). Odczekać, aż całość płynu z powrotem przesączy się do plastikowej buteleczki.
- i. Zdjąć kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 1, etap 6).
- j. Nałożyć zakrętkę na plastikową buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 1, etap 7).
- k. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 1, etap 8).

Opcja: Dozwolone jest dodatkowe mieszanie odczynników amplifikacji, enzymatycznych i odczynników-sond przy użyciu wytrząsarki do probówek. Odczynniki można mieszać, umieszczając ponownie zamkniętą plastikową butelkę na wytrząsarce probówek ustawionej na 20 obr./min (lub wartość równoważną) na minimum 5 minut.

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



Rysunek 1. Proces przygotowania odczynników w systemie Tigris DTS lub Panther System

2. Przygotować odczynnik wTCR
 - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR 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 i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - d. Otworzyć buteleczkę TCR-B i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR. Przewiduje się, że w buteleczce TCR-B pozostanie niewielka ilość płynu.
 - e. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę z TCR 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, enzymatyczne i odczynniki-sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C) przed rozpoczęciem testu.
2. Jeśli przygotowany odczynnik-sonda 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 może być użyty, nawet jeśli pozostanie osad resztkowy. Przed załadowaniem do systemu wymieszać odczynnik-sondę 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 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 przepelnionej 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 próbówki z próbką można poddać badaniu maksymalnie 3 odrębne porcje. Próby pobrania pipetą więcej niż 3 porcji z próbówki 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 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 od 2 do 5 dla każdego obszaru, który ma być wymazany.

Jeśli wynik badania w kierunku CT lub GC jest dodatni lub niejednoznaczny, patrz *Interpretacja testu – Wyniki QC pacjenta*. Dodatkowe informacje na temat monitorowania kontaminacji specyficzne dla systemu Tigris DTS można znaleźć w *Instrukcji obsługi systemu Tigris DTS*.

Panther System

Poniżej wymieniono odczynniki potrzebne do wykonania testu Aptima Combo 2 na obecność CT i GC w Panther System. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Dostarczone odczynniki i materiały

Zestaw testów Aptima Combo 2

100 testów (2 pudełka i 1 zestaw kontroli) (kat. nr PRD-05576)

250 testów (2 pudełka i 1 zestaw kontroli) (kat. nr PRD-05571)

Pudełko chłodnicze Aptima Combo 2 (1 z 2)

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

Symbol	Element	Liczba sztuk zestaw 250 testów	Liczba sztuk zestaw 100 testów
A	Odczynnik amplifikacji do testu Aptima Combo 2 <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym < 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka	1 fiolka
E	Odczynnik enzymatyczny do testu Aptima Combo 2 <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym < 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka	1 fiolka
P	Odczynnik-sonda do testu Aptima Combo 2 <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 fiolka	1 fiolka
TCR-B	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych B do testu Aptima Combo <i>Niezakaźne kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 x 0,61 mL	1 x 0,30 mL

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

Symbol	Element	Liczba sztuk zestaw 250 testów	Liczba sztuk zestaw 100 testów
AR	Roztwór do przygotowania odczynników amplifikacji do testu Aptima Combo 2 <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 x 27,7 mL	1 x 11,9 mL
ER	Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych do testu Aptima Combo 2 <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 11,1 mL	1 x 6,3 mL
PR	Roztwór do przygotowania odczynników-sond do testu Aptima Combo 2 <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający < 5% detergentu.</i>	1 x 35,4 mL	1 x 15,2 mL
S	Odczynnik selekcyjny do testu Aptima Combo 2 <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 x 108 mL	1 x 43,0 mL
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych do testu Aptima Combo 2 <i>Buforowany roztwór soli zawierający fazę stałą i oligomery wychwytyjące.</i>	1 x 54 mL	1 x 26,0 mL
	Kołnierze do przygotowania odczynników	3	3
	Karta z kodami kreskowymi partii głównych	1 karta	1 karta

Zestaw kontroli Aptima

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

Symbol	Element	Liczba sztuk
PCT/NGC	Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC Aptima <i>Niezakaźny kwas nukleinowy CT w buforowanym roztworze zawierającym < 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
PGC/NCT	Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT Aptima <i>Niezakaźny kwas nukleinowy GC w buforowanym roztworze zawierającym < 5% detergentu. Każda próbka o objętości 400 µL zawiera szacunkowy odpowiednik rRNA 50 komórek GC (250 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% <i>(od 0,7 M do 1,0 M)</i>	—
Rękawiczki jednorazowe	—
Wzorzec kalibracji SysCheck	301078
Zakrętki przepuszczalne Aptima	105668
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Zapaszowe zakrętki do zestawów z 250 testami <i>Roztwory do przygotowania odczynnika amplifikacji i odczynnika-sondy</i>	—
	<i>CL0041 (100 zakrętek)</i>
<i>Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego</i>	<i>501616 (100 zakrętek)</i>
<i>Odczynnik selekcyjny i TCR</i>	<i>CL0040 (100 zakrętek)</i>
Zapaszowe 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

1. 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

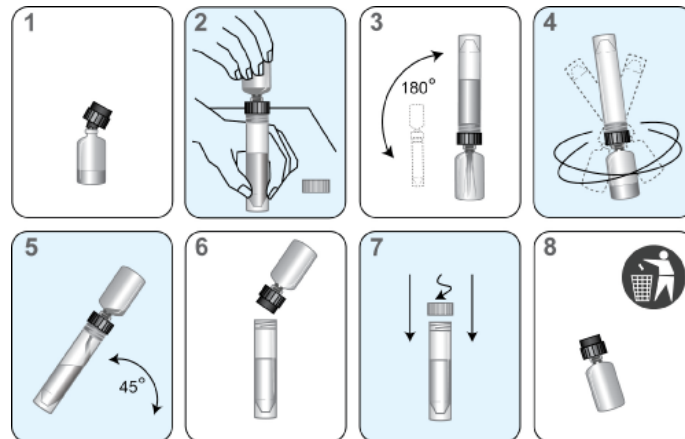
Uwaga: Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w aparacie Panther System.

1. Aby przygotować odczynniki amplifikacji, odczynniki enzymatyczne i odczynniki-sondy, 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 każdego liofilizowanego odczynnika. Przed założeniem kołnierza do przygotowania odczynników upewnić się, że roztwór do przygotowania odczynników i 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 obrócić buteleczkę z roztworem, aby wymieszać. Nie dopuszczać do utworzenia się piany podczas mieszania zawartości butelki 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 tworzenie się 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 plastikową buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 2, etap 7).
- k. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 2, etap 8).

Opcja: Dozwolone jest dodatkowe mieszanie odczynników amplifikacji, enzymatycznych i odczynników-sond przy użyciu wytrząsarki do probówek. Odczynniki można mieszać, umieszczając ponownie zamkniętą plastikową butelkę na wytrząsarce probówek ustawionej na 20 obr./min (lub wartość równoważną) na minimum 5 minut.

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



Rysunek 2. Proces przygotowania odczynników w systemie Tigris DTS lub Panther System

2. Przygotować odczynnik wTCR
 - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR 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 i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - d. Otworzyć buteleczkę TCR-B i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR. Przewiduje się, że w buteleczce TCR-B pozostanie niewielka ilość płynu.
 - e. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę z TCR 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, enzymatyczne i odczynniki-sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C) przed rozpoczęciem testu.
2. Jeśli przygotowany odczynnik-sonda 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 może być użyty, nawet jeśli pozostanie osad resztkowy. Przed załadowaniem do systemu wymieszać odczynnik-sondę 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 odczynnikiem. 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 próbówki z próbką można poddać badaniu maksymalnie 4 odrębne porcje. Próby pobrania pipetą więcej niż 4 porcji z próbówki 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 do 24 godzin, **chyba że**:
 - a. Wyniki kontroli 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 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 od 2 do 5 dla każdego obszaru, który ma być wymazany.

Jeśli wynik badania w kierunku CT lub GC jest dodatni lub niejednoznaczny, patrz *Interpretacja testu – Wyniki QC pacjenta*. W celu uzyskania dodatkowych informacji dotyczących monitorowania kontaminacji specyficznej dla Panther System, należy skontaktować się z pomocą techniczną firmy Hologic.

Interpretacja testu – Wyniki QC pacjenta

A. Interpretacja testu

Wyniki testów są automatycznie interpretowane przez oprogramowanie do testu Aptima, przy użyciu protokołu Aptima Combo 2 i prezentowane jako indywidualne wyniki testów CT i GC. Wynik testu może być ujemny, niejednoznaczny, dodatni lub nieważny, jak określono na podstawie typu kinetycznego i całkowitej wartości RLU w etapie wykrywania (patrz poniżej). Wynik testu może być nieważny z powodu parametru znajdującego się poza normalnym oczekiwanym zakresem. Próbki z początkowo niejednoznacznym i nieważnym wynikiem należy ponownie zbadać.

Rodzaj kinetyczny	Łączna wartość RLU (x1000), dająca wynik CT		
	Ujemny	Niejednoznaczny	Dodatni
Tylko CT	1 do < 25	25 do < 100	100 do < 4 500
CT i GC	1 do < 85	85 do < 250	250 do < 4 500
Niejednoznaczny CT	1 do < 85	85 do < 4 500	N/D

Rodzaj kinetyczny	Łączna wartość RLU (x1000), dająca wynik GC		
	Ujemny	Niejednoznaczny	Dodatni
Tylko GC	1 do < 60	60 do < 150	150 do < 4 500
GC i CT	1 do < 85	85 do < 250	250 do < 4 500
Niejednoznaczny GC	1 do < 85	85 do < 4 500	N/D

B. Wyniki kontroli jakości i akceptowalność

Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC i Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT działają jako kontrole dla etapów wychwytywania, amplifikacji i wykrywania cząsteczek szukanych testu. 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, CT / Kontrola ujemna, GC służy jako kontrola ujemna dla wyników testu w kierunku GC. Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT służy jako kontrola ujemna dla wyników testu w kierunku CT. Jeśli jest to pożądane, można dodać podwójną kontrolę ujemną dostarczoną przez użytkownika w celu monitorowania tła badania. Prawidłowe przygotowanie próbek jest potwierdzone wizualnie poprzez obecność pojedynczej wymazówki do pobierania próbek wymazów 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 do płynnych próbek Pap w roztworze PerservCyt.

Kontrole dodatnie muszą dawać następujące wyniki badań:

Kontrola	Łączne RLU (x1000)	Wynik CT	Wynik GC
Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC	≥ 100 oraz < 3 000	Dodatni	Ujemny
Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT	≥ 150 oraz < 3 000	Ujemny	Dodatni

- 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).
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 dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC i Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT znajdujące się w zestawie działają jako kontrole dla etapów wychwytywania, amplifikacji i wykrywania cząsteczek szukanych testu i muszą znajdować się w każdej serii testu. Jeśli jest to pożądane, można zbadać kontrole dla lizy komórek i stabilizacji RNA w odpowiednich podłożach transportowych (roztwór PreservCyt, STM) zgodnie z wymaganiami odpowiednich organizacji akredytujących lub procedurami poszczególnych laboratoriów. Znane próbki dodatnie 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 pacjenta*, *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, płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt i moczu. (Patrz Uwagi poniżej.)
 - a. Wyniki wstępne

CT Dod.	Dodatni dla rRNA CT.
CT Ujem.	Uznawany za ujemny dla rRNA CT.
CT Niejedn.	Próbkę należy przebadać ponownie.
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

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

Uwagi:

- Przy interpretacji wyników testu Aptima Combo 2 u osób bezobjawowych lub w populacjach o niskiej częstości występowania zaleca się staranne rozważenie danych dotyczących skuteczności.
- Pierwszy ważny wynik dla każdego analitu jest wynikiem, który powinien zostać zgłoszony.
- Wynik ujemny nie wyklucza obecności zakażenia CT lub GC, ponieważ wyniki zależą od odpowiedniego pobrania próbki, braku inhibitorów i wystarczającej ilości rRNA do wykrycia zakażenia. Na wyniki badań może mieć wpływ niewłaściwe pobranie próbki, niewłaściwe przechowywanie próbki, błąd techniczny lub pomieszenie próbek.
- Podobnie jak w przypadku wszystkich metod niehodowlanych, dodatniego wyniku badania próbki uzyskanej od pacjenta po leczeniu nie można interpretować jako wskazującego na obecność żywych CT lub GC.
- Podobnie jak w przypadku wszystkich metod badania moczu, ujemny wynik badania moczu u pacjentki, u której klinicznie podejrzewa się zakażenie chlamydialne lub gonokokowe, nie wyklucza obecności CT lub GC w drogach moczowo-płciowych.
- Wymaz z pochwy zalecany jest u pacjentek, u których istnieje kliniczne podejrzenie zakażenia chlamydiami lub gonokokami (29, 40).
- 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. Próbki wymazów oceniono w Test Aptima Combo 2 w systemie DTS pod kątem zakłóceń spowodowanych przez krew, lubrykanty ginekologiczne i środki plemnikobójcze. Próbki moczu oceniono pod kątem zakłóceń spowodowanych obecnością krwi, powszechnie stosowanych witamin, minerałów i leków przeciwbólowych dostępnych bez recepty. Zakłócenia spowodowane przez krew oceniono w systemie Tigris DTS oraz Panther System. Próbki wymazów oceniono w Panther System również pod kątem zakłóceń spowodowanych lekami na przeziębienie, pomadkami do ust, środkami łagodzącymi kaszel, pastą do zębów, płynem do płukania ust, kremem na hemoroidy, środkami przeczyszczającymi, lekami przeciwbiegunkowymi, lekami zobojętniającymi kwas żołądkowy oraz kałem. Dane te nie wykazały zakłócenia testu przez te substancje.
- C. Nie oceniono wpływu stosowania tamponów, irygacji pochwy oraz zmiennych związanych z pobieraniem próbek na wykrywanie CT lub GC.
- D. Obecność śluzu w próbkach pobranych z kanału szyjki macicy nie wpływa na wykrywanie CT lub GC za pomocą testu Aptima Combo 2. Jednakże, aby zapewnić zebranie komórek zakażonych CT, należy pobrać nabłonki walcowate wyściełające kanał szyjki macicy. Jeśli nadmiar śluzu nie zostanie usunięty, nie można zagwarantować pobrania próbki tych komórek.
- E. Ten test został przetestowany wyłącznie przy użyciu następujących próbek:
- Pobrane przez lekarza próbki wymazów z kanału szyjki macicy, pochwy, cewki moczowej mężczyzn, gardła i odbytnicy
 - Pobrane przez lekarza płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt
 - Pobrane przez pacjenta próbki wymazów z pochwy, gardła i odbytnicy
 - Pobrane przez pacjenta próbki moczu kobiet i mężczyzn
- 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)
- F. 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.
- G. Test Aptima Combo 2 nie służy do oceny podejrzeń o wykorzystywanie seksualne ani do innych wskazań medyczno-prawnych. Dla tych pacjentów, dla których fałszywie dodatni wynik może mieć niekorzystne skutki psychospołeczne, CDC zaleca ponowne przeprowadzenie testu (8).

- H. 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. Należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania odpowiedniego zestawu do pobierania próbek firmy Hologic.
- I. Za pomocą Testu Aptima Combo 2 nie można określić niepowodzenia lub sukcesu terapeutycznego, ponieważ kwas nukleinowy może utrzymywać się w organizmie po zastosowaniu odpowiedniej terapii przeciwbakteryjnej.
- J. Wyniki testu Aptima Combo 2 należy interpretować w powiązaniu z innymi danymi laboratoryjnymi i klinicznymi dostępnymi dla lekarza.
- K. 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.
- L. Wyniki testu Aptima Combo 2 mają charakter jakościowy. Dlatego nie można zakładać istnienia korelacji między intensywnością dodatniego sygnału w teście a liczbą mikroorganizmów w badanej próbce.
- M. W przypadku badań klinicznych z użyciem wymazu z pochwy, wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z cewki moczowej mężczyzn oraz próbki moczu, wyniki w zakresie wykrywania CT i GC pochodzą z populacji 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.
- N. W przypadku badań klinicznych z wykorzystaniem płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt, wyniki testów Aptima Combo 2 w zakresie wykrywania CT i GC pochodzą głównie z populacji o niskiej częstości występowania. Niemniej jednak, 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.
- O. 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.
- P. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt, przetwarzane przy użyciu urządzeń innych niż aparaty ThinPrep 2000 lub ThinPrep 5000, nie zostały ocenione pod kątem zastosowania w testach firmy Aptima.
- Q. Próbki wymazu z pochwy pobrane przez pacjentki są opcją dla badań przesiewowych kobiet, gdy nie ma innych wskazań do badania miednicy.
- R. Zastosowania pobranych przez pacjenta próbek wymazów z pochwy, gardła i odbytnicy są ograniczone do placówek służby zdrowia, w których dostępne jest wsparcie/doradztwo w celu wyjaśnienia procedur i środków ostrożności.
- S. Test Aptima Combo 2 nie został zatwierdzony do stosowania z próbkami pobranymi przez pacjentów w domu.
- T. Skuteczność testu Aptima Combo 2 nie została oceniona u nastolatków w wieku poniżej 14 lat.

- 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 niewielką ilość materiału komórkowego CT i GC, może dojść do jego nierównomiernego rozłożenia. 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.

Oczekiwane wartości Aptima Combo 2

Uwaga: Poniższe wyniki zostały uzyskane przy użyciu oryginalnej wersji testu Aptima Combo 2 z wykorzystaniem systemu DTS.

Częstość występowania

Częstość występowania CT i/lub GC w populacjach pacjentów zależy od czynników ryzyka, takich jak wiek, płeć, obecność objawów, rodzaj placówki i metoda badania. Podsumowanie częstości występowania trzech wyników w kierunku CT i GC, określonych za pomocą Testu Aptima Combo 2, przedstawiono w Tabeli 1a, 1b oraz 1c dla trzech wielośrodkowych badań klinicznych w podziale na ośrodki kliniczne i ogółem.

Częstość występowania zakażenia *C. trachomatis* i/lub *N. gonorrhoeae* określonego za pomocą wyników testu Aptima Combo 2 według ośrodka klinicznego

Tabela 1a: Próbkę wymazu z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej

Ośrodek	Wymaz z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej % częstości występowania (l. dodatnich/l. badanych)						Mocz % częstości występowania (l. dodatnich/l. badanych)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	10,0	(39/392)	12,8	(50/392)	14,5	(57/392)	8,4	(33/395)	12,9	(51/395)	13,9	(55/395)
2	7,0	(13/186)	12,9	(24/186)	6,5	(12/186)	5,3	(13/245)	13,9	(34/245)	8,6	(21/245)
3	10,4	(48/462)	22,9	(106/462)	14,3	(66/462)	10,3	(48/465)	20,9	(97/465)	12,7	(59/465)
4	3,3	(9/270)	12,2	(33/270)	7,0	(19/270)	3,3	(9/270)	11,5	(31/270)	6,7	(18/270)
5	1,9	(10/533)	8,4	(45/533)	2,3	(12/533)	2,1	(12/567)	9,4	(53/567)	1,8	(10/567)
6	6,3	(43/678)	12,8	(87/678)	16,2	(110/678)	5,9	(40/681)	10,9	(74/681)	13,5	(92/681)
7	4,4	(11/252)	8,7	(22/252)	21,8	(55/252)	4,1	(12/295)	9,2	(27/295)	18,0	(53/295)
Wszystkie	6,2	(173/2773)	13,2	(367/2773)	11,9	(331/2773)	5,7	(167/2918)	12,6	(367/2918)	10,6	(308/2918)

Tabela 1b: Próbkę wymazu z pochwy pobrane przez pacjentkę i próbki wymazu z pochwy pobrane przez lekarza

Ośrodek	Wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę % częstości występowania (l. dodatnich/l. badanych)						Wymaz z pochwy pobrany przez lekarza % częstości występowania (l. dodatnich/l. badanych)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	1,8	(4/220)	16,4	(36/220)	4,1	(9/220)	3	(7/230)	15,7	(36/230)	3,5	(8/230)
2	9,6	(19/198)	18,7	(37/198)	6,6	(13/198)	9,5	(19/199)	18,1	(36/199)	7	(14/199)
3	0,9	(1/111)	9	(10/111)	2,7	(3/111)	0,9	(1/113)	9,7	(11/113)	1,8	(2/113)
4	0,4	(1/266)	9	(24/266)	1,9	(5/266)	0,4	(1/267)	11,2	(30/267)	2,2	(6/267)
5	0,5	(1/199)	7,5	(15/199)	0,5	(1/199)	0,5	(1/199)	7	(14/199)	0,5	(1/199)
6	2,8	(8/290)	10	(29/290)	5,5	(16/290)	2	(6/296)	12,2	(36/296)	5,4	(16/296)
7	0	(0/102)	11,8	(12/102)	0	(0/102)	0	(0/102)	9,8	(10/102)	0	(0/102)
8	0	(0/48)	8,3	(4/48)	2,1	(1/48)	0	(0/51)	7,8	(4/51)	2	(1/51)
Wszystkie	2,4	(34/1434)	11,6	(167/1434)	3,3	(48/1434)	2,4	(35/1457)	12,1	(177/1457)	3,3	(48/1457)

Tabela 1c: Płynna próbka Pap w roztworze PreservCyt

Ośrodek	Płynna próbka Pap w roztworze PreservCyt % częstości występowania (l. dodatnich/l. badanych)		
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+
1	3,0 (3/100)	13,0 (13/100)	2,0 (2/100)
2	0 (0/124)	3,2 (4/124)	0,8 (1/124)
3	0,4 (2/475)	6,1 (29/475)	0,4 (2/475)
4	0,4 (1/287)	4,2 (12/287)	0 (0/287)
5	0 (0/297)	5,1 (15/297)	1,0 (3/297)
6	0 (0/364)	5,5 (20/364)	0,6 (2/364)
WSZYSTKIE	0,4 (6/1647)	5,6 (93/1647)	0,6 (10/1647)

Częstość występowania CT i GC została obliczona na podstawie wyników testu Aptima Combo 2 dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt.

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

Szacowane dodatnie i ujemne wartości predykcyjne (PPV i NPV) dla różnych wskaźników częstości występowania przy użyciu Test Aptima Combo 2 są przedstawione odpowiednio dla CT i GC w Tabelach Tabele 2 i 3. Obliczenia te oparte są na hipotetycznej częstości występowania oraz ogólnej czułości i swoistości obliczonej na podstawie stanu zakażenia pacjenta dla dwóch wielośrodkowych badań klinicznych. Ogólna czułość i swoistość dla CT wynosiła odpowiednio 96,1% i 98,0% (Tabela 2). Ogólna czułość i swoistość dla GC wynosiła odpowiednio 97,8% i 99,2% (Tabela 3). Rzeczywiste wartości PPV i NPV, obliczone na podstawie danych z badań klinicznych, przedstawiono w Tabeli 6a i 10a (próbki wymazu i moczu), Tabele 6b i 10b (próbki wymazu z pochwy) oraz Tabele 6c i 10c (płynne próbki Pap z roztworem PreservCyt).

Tabela 2: Hipotetyczne PPV i NPV dla CT

częstość występowania (%)	Czułość (%)	Swoistość (%)	Dodatnia wartość predykcyjna (%)	Ujemna wartość predykcyjna (%)
1	96,1	98,0	33,1	100,0
2	96,1	98,0	50,0	99,9
5	96,1	98,0	72,0	99,8
10	96,1	98,0	84,5	99,6
15	96,1	98,0	89,6	99,3
20	96,1	98,0	92,4	99,0
25	96,1	98,0	94,2	98,7
30	96,1	98,0	95,4	98,3

Tabela 3: Hipotetyczne PPV i NPV dla GC

częstość występowania (%)	Czułość (%)	Swoistość (%)	Dodatnia wartość predykcyjna (%)	Ujemna wartość predykcyjna (%)
1	97,8	99,2	55,3	100,0
2	97,8	99,2	71,4	100,0
5	97,8	99,2	86,6	99,9
10	97,8	99,2	93,2	99,7
15	97,8	99,2	95,6	99,6
20	97,8	99,2	96,8	99,4
25	97,8	99,2	97,6	99,2
30	97,8	99,2	98,1	99,0

Skuteczność kliniczna testu Aptima Combo 2

Uwaga: Poniższe wyniki zostały uzyskane przy użyciu oryginalnej wersji testu Aptima Combo 2 z wykorzystaniem systemu DTS.

Patrz Zgodność próbek klinicznych systemu Tigris DTS po sekcji Skuteczność analityczna testu Aptima Combo 2, aby uzyskać informacje o specyficznej dla systemu Tigris DTS skuteczności klinicznej.

Wyniki badania klinicznego

Skuteczność testu Aptima Combo 2 w systemach DTS została ustalona w trzech wieloośrodkowych badaniach klinicznych, przeprowadzonych w Ameryce Północnej. W pierwszym wieloośrodkowym badaniu klinicznym oceniano wymazy z kanału szyjki macicy i cewki moczowej mężczyzn oraz próbki moczu mężczyzn i kobiet pobrane od 1 363 mężczyzn i 1 569 kobiet w siedmiu ośrodkach klinicznych o różnym położeniu geograficznym. W drugim wieloośrodkowym badaniu klinicznym oceniano próbki wymazu z pochwy pobrane przez pacjentki i przez lekarzy od 1 464 kobiet, które zgłosiły się do ośmiu zróżnicowanych geograficznie ośrodków klinicznych. W trzecim wieloośrodkowym badaniu klinicznym oceniano płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt pobrane od 1 647 badanych w sześciu ośrodkach klinicznych. W obliczeniach wyników opartych na stanie objawów, badani byli klasyfikowani jako objawowi, jeśli przez badanego były zgłaszane objawy takie jak upławy, dysuria i ból miednicy. Uczestników zakwalifikowano jako bezobjawowych, jeśli nie zgłaszali objawów.

Badanie kliniczne próbek wymazu z kanału szyjki macicy, męskiej cewki moczowej oraz moczu

W wieloośrodkowym badaniu klinicznym z użyciem wymazu z szyjki macicy, wymazu z cewki moczowej i próbki moczu wzięło udział 2 932 objawowych i bezobjawowych mężczyzn i kobiet uczęszczających do poradni chorób wenerycznych, OB/GYN i planowania rodziny. Od mężczyzn pobierano trzy wymazy z cewki moczowej i próbkę moczu, a od kobiet cztery wymazy z szyjki macicy i próbkę moczu. W przypadku mężczyzn, którzy dostarczyli jeden wymaz z cewki moczowej, badanie obejmowało tylko hodowlę GC. W przypadku mężczyzn, którzy dostarczyli trzy wymazy, badania obejmowały hodowlę GC, test Aptima Combo 2 oraz komercyjnie dostępny NAAT dla CT i GC. Badania wymazów z kanału szyjki macicy obejmowały test Aptima Combo 2, dwa dostępne na rynku testy NAAT dla CT, jeden dostępny na rynku test NAAT dla GC oraz hodowlę GC. Wymaz z hodowli GC był pobierany jako pierwszy, a kolejność pobierania pozostałych wymazów była rotowana w celu zminimalizowania błędu systematycznego pobierania. Mocz badano testem Aptima Combo 2, dwoma dostępnymi na rynku testami NAAT dla CT i jednym dostępnym na rynku testem amplifikacji w kierunku GC. W tym badaniu klinicznym testu Aptima Combo 2 jako testy referencyjne wykorzystano dostępne w handlu testy amplifikacji.

Wszystkie obliczenia skuteczności opierały się na całkowitej liczbie próbek wymazu z kanału szyjki macicy i cewki moczowej mężczyzn oraz moczu mężczyzn i kobiet, zbadanych za pomocą testu Aptima Combo 2, porównanych z algorytmem stanu zakażenia pacjenta dla każdej płci. W każdym algorytmie specyficznym dla płci, określenie badanego jako zakażonego, niezakażonego lub bez jednoznacznego wyniku było oparte na połączonych wynikach referencyjnego testu NAAT dla wymazu z kanału szyjki macicy i wymazu z cewki moczowej mężczyzn oraz wynikach moczu. W przypadku stanu zakażenia CT, dowolne dwa dodatnie wyniki referencyjnego testu NAAT w dowolnej kombinacji wymazu i moczu oznaczały uczestnika jako zakażonego. Jeżeli wszystkie wyniki testów referencyjnych były ujemne, uczestnika uznawano za niezakażonego. Jeśli tylko jeden wynik był dodatni, badanego oznaczano jako niejednoznacznego. W przypadku stanu zakażenia GC, dodatni wynik hodowli lub dodatni wynik wymazu i moczu przy użyciu referencyjnego testu amplifikacji oznaczał badanego jako

zakażonego. Ujemny wynik hodowli i pojedynczy dodatni wynik referencyjnego testu amplifikacji dawały stan niejednoznaczny. Jeżeli wszystkie wyniki testów referencyjnych były ujemne, uczestnika uznawano za niezakażonego. Tabele 7a, 7b, 7c, 8, 11a, 11b, 11c oraz 12 podsumowują częstość występowania wyników badań dla dwóch referencyjnych testów NAAT i testu Aptima Combo 2 u uczestników badań klinicznych.

Wyniki testów Aptima Combo 2 uzyskane z pobranych przez lekarza wymazów z kanału szyjki macicy i cewki moczowej mężczyzn oraz próbek moczu mężczyzn i kobiet zostały porównane z algorytmem stanu zakażenia pacjenta w celu określenia czułości, swoistości i wartości predykcyjnych. W analizie danych wykorzystano łącznie 15 661 wyników testów w kierunku CT i 14 144 wyników testów w kierunku GC. Czułość i swoistość testów w kierunku CT w zależności od płci, rodzaju próbki i stanu objawów przedstawiono w Tabeli 5a. Tabela 6a przedstawia czułość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima Combo 2 w kierunku CT w porównaniu ze stanem zakażenia pacjenta dla każdego ośrodka klinicznego i ogólnie. Czułość i swoistość testów w kierunku GC w zależności od płci, rodzaju próbki i stanu objawów przedstawiono w Tabeli 9a. Tabela 10a przedstawia czułość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima Combo 2 w kierunku GC w porównaniu ze stanem zakażenia pacjenta dla każdego ośrodka klinicznego i ogólnie. Próbki, które były dodatnie w teście Aptima Combo 2 i miały ujemny stan zakażenia pacjenta (tj. pozornie fałszywie dodatnie), zostały przebadane przy użyciu alternatywnych testów amplifikacji firmy Hologic w kierunku CT i GC. Testy te amplifikują sekwencje CT i GC, które różnią się od tych amplifikowanych w teście Aptima Combo 2. Badanie przeprowadzono dla każdej próbki (tj. niekoniecznie na sparowanych próbkach wymazu i moczu), a wyniki alternatywnych testów amplifikacji nie zostały wykorzystane do zmiany pierwotnej kategoryzacji pacjentów (Tabele 5a i 9a).

Próbki wymazów z kanału szyjki macicy zostały ocenione pod kątem wpływu krwi na skuteczność testów w kierunku CT i GC. Spośród 2 454 próbek ocenianych pod kątem skuteczności w kierunku CT, 234 (9,5%) próbek zawierało krew. Spośród 2 829 próbek ocenianych pod kątem skuteczności w kierunku GC, 247 (8,7%) próbek zawierało krew. Zarówno wyniki testów w kierunku CT, jak i w kierunku GC, nie różniły się statystycznie w przypadku próbek z krwią w porównaniu z próbkami bez krwi. Dodatkowe dane dotyczące badania krwi można znaleźć w *Substancje zakłócające*.

W badaniu klinicznym oceniono skuteczność testu z próbkami wymazu z kanału szyjki macicy i moczu pobranymi od ciężarnych kobiet. W przypadku CT czułość dla próbki wymazu z kanału szyjki macicy i moczu wyniosła odpowiednio 100% (8/8) i 100% (8/8). Swoistość dla próbki wymazu z kanału szyjki macicy i moczu wyniosła odpowiednio 95,8% (23/24) i 100% (24/24). W przypadku GC czułość dla próbki wymazu z kanału szyjki macicy i moczu wyniosła odpowiednio 100% (8/8) i 100% (8/8). Swoistość dla próbki wymazu z kanału szyjki macicy i moczu wyniosła odpowiednio 100% (26/26) i 100% (26/26).

Spośród 11 406 wyników testu Aptima Combo 2 z tego wieloośrodkowego badania klinicznego, trzy wyniki w kierunku CT i dziewięć wyników w kierunku GC było niejednoznacznych przy powtórным badaniu i zostały wykluczone z analizy. Jedna próbka była nieważna zarówno dla wyników CT, jak i GC i została wykluczona z badania.

Badanie kliniczne próbek wymazu z pochwy

W wieloośrodkowym badaniu klinicznym z użyciem wymazu z pochwy do badania klinicznego włączono 1 464 objawowe i bezobjawowe kobiety uczęszczające do poradni chorób wenerycznych, OB/GYN, dla nastolatków i planowania rodziny. Spośród 646 bezobjawowych osób włączonych do badania, dwie miały mniej niż 16 lat, 158 było w wieku od 16 do 20 lat, 231 w wieku od 21 do 25 lat, a 255 w wieku powyżej 25 lat. Spośród 818 objawowych uczestniczek badania 160 było w wieku od 16 do 20 lat, 324 w wieku od 21 do 25 lat, a 334 w wieku powyżej 25 lat. Od każdej kwalifikującej się uczestniczki pobrano pięć

próbek: jedną próbkę moczu, jeden wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę, jeden wymaz z pochwy pobrany przez lekarza i dwa losowe wymazy z kanału szyjki macicy. Wyniki testu Aptima Combo 2 zostały wygenerowane z dwóch wymazów z pochwy, jednego z wymazów z kanału szyjki macicy i jednej porcji próbki moczu. Drugi wymaz z kanału szyjki macicy i druga porcja próbki moczu zostały przebadane przy użyciu innego dostępnego na rynku testu NAAT w kierunku CT i innego dostępnego na rynku testu NAAT w kierunku GC. Próbkę wymazu z kanału szyjki macicy i moczu badane testem Aptima Combo 2 i innymi dostępnymi na rynku testami NAAT były używane jako referencyjne testy NAAT w celu określenia stanu zakażenia dla każdej uczestniczki badania klinicznego z użyciem próbki wymazu z pochwy. Badanie próbek przeprowadzono albo w miejscu rejestracji uczestników, albo w zewnętrznym ośrodku badawczym.

Wszystkie obliczenia skuteczności opierały się na całkowitej liczbie wyników testu Aptima Combo 2 pobranych przez pacjentki i pobranych przez lekarzy wymazów z pochwy w porównaniu z algorytmem stanu zakażenia pacjentki. W analizie danych wykorzystano łącznie 2 073 wyniki testów w kierunku CT i 2 073 wyniki testów w kierunku GC na próbkach wymazu z pochwy. W algorytmie określenie osoby jako zakażonej lub niezakażonej CT lub GC opierało się na wynikach badania wymazu z kanału szyjki macicy i próbki moczu przy użyciu dostępnego na rynku testu Aptima Combo 2 oraz innego dostępnego na rynku testu NAAT. Pacjentki uznawano za zakażone CT lub GC, jeśli dwie z czterech próbek wymazu z kanału szyjki macicy 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. Tabele 7b i 11b podsumowują liczbę wyników uzyskanych od uczestniczek objawowych i bezobjawowych oznaczonych jako zakażone lub niezakażone odpowiednio CT lub GC, zgodnie z algorytmem stanu zakażenia pacjentki. W tym badaniu klinicznym do określenia stanu zakażenia GC użyto dwóch dostępnych na rynku testów NAAT. Jako testu referencyjnego nie użyto hodowli, ponieważ test Aptima Combo 2 został już oceniony w porównaniu z hodowlą dla innych typów próbek (szczegółowe informacje znajdują się w sekcji *Badanie kliniczne próbek wymazu z kanału szyjki macicy, męskiej cewki moczowej oraz moczu*).

Czułość i swoistość dla CT w zależności od płci, typu próbki i stanu objawów przedstawiono w Tabeli 5b. Tabela 6b przedstawia czułość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima Combo 2 w kierunku CT w porównaniu ze stanem zakażenia pacjentki dla każdego ośrodka klinicznego i ogólnie. Czułość i swoistość testów w kierunku GC w zależności od płci, rodzaju próbki i stanu objawów przedstawiono w Tabeli 9b. Tabela 9b przedstawia czułość, swoistość i wartości predykcyjne testu Aptima Combo 2 w kierunku GC w porównaniu ze stanem zakażenia pacjenta dla każdego ośrodka klinicznego i ogólnie. Próbkę, która była dodatnie w teście Aptima Combo 2 i ujemne pod względem stanu zakażenia pacjentki (tj. pozornie fałszywie dodatnie), została przebadana alternatywnymi testami TMA w kierunku CT i GC; te alternatywne testy TMA celują w sekwencje, które są odmienne od sekwencji szukanych w teście Aptima Combo 2. Wyniki alternatywnych testów TMA nie zostały użyte do zmiany pierwotnej kategoryzacji pacjentek (Tabele 5b i 9b).

Wśród 1 464 uczestniczek badania było 13 osób z nieznanym stanem zakażenia CT i 14 osób z nieznanym stanem 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. Wśród 5 782 wyników próbek wymazów z pochwy uzyskanych przy użyciu testu Aptima Combo 2 w wieloośrodkowym badaniu klinicznym, niewielki odsetek (28, 0,5%) stanowiły próbki wymazów z pochwy, których wynik w kierunku CT lub GC był początkowo nieważny lub niejednoznaczny. Przy powtórным badaniu tylko trzy wyniki w kierunku CT i dwa wyniki w kierunku GC były niejednoznaczne i zostały wyłączone z analizy. Żadna z próbek nie dała wyniku nieważnego podczas powtórного badania.

Badania kliniczne płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

W celu oceny zastosowania roztworu PreservCyt (składnik systemu ThinPrep 2000) jako alternatywnego podłoża dla próbek ginekologicznych do wykrywania CT i GC przeprowadzono prospektywne, wielośrodkowe badanie kliniczne. W badaniu klinicznym oceniono tysiąc sześćset czterdzieści siedem (1 647) objawowych i bezobjawowych kobiet uczęszczających do klinik OB/GYN, planowania rodziny, zdrowia publicznego, kobiecych i chorób wenerycznych. Spośród 1 647 dostępnych uczestniczek badania, 1 288 było bezobjawowych, a 359 objawowych. Uczestniczki badania były kwalifikowane z ośrodków, w których częstość występowania CT wahała się od 3,2% do 14,0%, a częstość występowania GC od 0% do 5,0%. Od każdej kwalifikującej się uczestniczki pobrano dwie próbki: jedną płynną próbkę Pap w roztworze PreservCyt i jeden wymaz z kanału szyjki macicy. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt zostały przetworzone zgodnie z instrukcją obsługi aparatu ThinPrep 2000 oraz ulotką dołączoną do zestawu do przenoszenia próbek Aptima. Po przetworzeniu płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt za pomocą aparatu ThinPrep 2000, próbka została przeniesiona do zestawu do przenoszenia próbek Aptima w celu wykonania badania testem Aptima Combo 2. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt oraz próbki wymazu z kanału szyjki macicy zostały zbadane testem Aptima Combo 2.

Czułość i swoistość dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt zostały obliczone poprzez porównanie wyników z algorytmem stanu zakażenia pacjentki. W algorytmie, określenie osoby jako zakażonej lub niezakażonej CT lub GC opierało się na wynikach wymazu z kanału szyjki macicy uzyskanych w dwóch dostępnych na rynku testach NAAT (Tabela 7c i 11c). W przypadku CT, referencyjne testy NAAT obejmowały test Aptima Combo 2 i test Aptima CT. W GC, referencyjne testy NAAT obejmowały test Aptima Combo 2 i test Aptima GC. Do stwierdzenia *zakażenia* pacjentki wymagane były dodatnie wyniki obu referencyjnych testów NAAT. Stan *braku zakażenia* stwierdzano, jeśli wyniki dwóch referencyjnych testów NAAT były rozbieżne lub ujemne.

Czułość i swoistość testu w kierunku CT na płynnych próbkach Pap w roztworze PreservCyt badanych testem Aptima Combo 2, z podziałem na stan objawów i ogółem, przedstawiono w Tabeli 5c. W przypadku CT ogólna czułość wyniosła 96,7% (87/90). U pacjentek objawowych i bezobjawowych czułość wyniosła odpowiednio 96,7% (29/30) i 96,7% (58/60). Ogólna swoistość testu w kierunku CT na płynnych próbkach Pap w roztworze PreservCyt wyniosła 99,2% (1 545/1 557). U pacjentek objawowych i bezobjawowych swoistość wyniosła odpowiednio 98,5% (324/329) i 99,4% (1 221/1 228). Tabela 6c przedstawia czułość i swoistość testu Aptima Combo 2 w kierunku CT dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt dla każdego ośrodka klinicznego i ogólnie. W przypadku CT, czułość wahała się od 92,9% do 100%. Swoistość wahała się od 97,7% do 100%.

Czułość i swoistość testu w kierunku GC na płynnych próbkach Pap w roztworze PreservCyt badanych testem Aptima Combo 2, z podziałem na stan objawów i ogółem, przedstawiono w Tabeli 9c. W przypadku GC ogólna czułość wyniosła 92,3% (12/13). U pacjentek objawowych i bezobjawowych czułość wyniosła odpowiednio 100% (7/7) i 83,3% (5/6). Ogólna swoistość testu w kierunku GC na płynnych próbkach Pap w roztworze PreservCyt wyniosła 99,8% (1 630/1 634). U pacjentek objawowych i bezobjawowych swoistość wyniosła odpowiednio 100% (352/352) i 99,7% (1 278/1 282). Tabela 10c przedstawia czułość i swoistość testu Aptima Combo 2 w kierunku GC dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt dla każdego ośrodka klinicznego i ogólnie. W przypadku GC, czułość wahała się od 80,0% do 100%. Swoistość wahała się od 99,0% do 100%.

Rozkład przyrządów do pobierania próbek z szyjki macicy używanych w tym badaniu klinicznym w zależności od ośrodka klinicznego został podsumowany w Tabeli 4.

Tabela 4: Podsumowanie urządzeń do pobierania próbek z szyjki macicy używanych w badaniu płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Urządzenie do pobierania próbek z 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

Tabele skuteczności dla *Chlamydia trachomatis*

Czułość i swoistość dla *C. trachomatis*

Tabela 5a: Próbkę a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Próbka	Objawy Stan	N	TP	FP ^a	TN	FN	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	
Mężczyzna	Wymaz	Objaw.	676	190	15 ^a	464	7	96,4% (92,8-98,6)	96,9% (94,9-98,2)
		Bezobj.	388	70	5 ^b	309	4	94,6% (86,7-98,5)	98,4% (96,3-99,5)
		Wszystkie ¹	1065	260	20 ^c	774	11	95,9% (92,9-98,0)	97,5% (96,1-98,5)
Mężczyzna	Mocz	Objaw.	694	199	8 ^d	484	3	98,5% (95,7-99,7)	98,4% (96,8-99,3)
		Bezobj.	400	77	4 ^e	316	3	96,3% (89,4-99,2)	98,8% (96,8-99,7)
		Wszystkie ¹	1095	276	12 ^f	801	6	97,9% (95,4-99,2)	98,5% (97,4-99,2)
Kobieta	Wymaz	Objaw.	819	133	22 ^g	653	11	92,4% (86,7-96,1)	96,7% (95,1-97,9)
		Bezobj.	569	61	6 ^h	501	1	98,4% (91,3-100)	98,8% (97,4-99,6)
		Wszystkie ²	1389	195	28 ⁱ	1154	12	94,2% (90,1-97,0)	97,6% (96,6-98,4)
	Mocz	Objaw.	821	136	8 ^j	668	9	93,8% (88,5-97,1)	98,8% (97,7-99,5)
		Bezobj.	569	60	5 ^k	502	2	96,8% (88,8-99,6)	99,0% (97,7-99,7)
		Wszystkie ²	1391	197	13 ^l	1170	11	94,7% (90,7-97,3)	98,9% (98,1-99,4)
Ogółem	Wymaz	Objaw.	1495	323	37 ^m	1117	18	94,7% (91,8-96,8)	96,8% (95,6-97,7)
		Bezobj.	957	131	11 ⁿ	810	5	96,3% (91,6-98,8)	98,7% (97,6-99,3)
		Wszystkie ³	2454	455	48 ^o	1928	23	95,2% (92,9-96,9)	97,6% (96,8-98,2)
	Mocz	Objaw.	1515	335	16 ^p	1152	12	96,5% (94,0-98,2)	98,6% (97,8-99,2)
		Bezobj.	969	137	9 ^q	818	5	96,5% (92,0-98,8)	98,9% (97,9-99,5)
		Wszystkie ³	2486	473	25 ^r	1971	17	96,5% (94,5-98,0)	98,7% (98,2-99,2)

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

¹ Obejmuje 1 uczestnika płci męskiej, u którego nie odnotowano objawów.

² Obejmuje 1 uczestniczkę płci żeńskiej, u której nie odnotowano objawów.

³ Obejmuje 1 uczestnika płci męskiej i 1 uczestniczkę płci żeńskiej, u których nie odnotowano objawów.

⁴ Wyniki alternatywnego testu TMA w kierunku CT przedstawiają I. dodatnich wyników / I. przebadanych próbek: a: 11/14;

b: 3/5; c: 14/19; d: 4/8; e: 0/4;

f: 4/12; g: 18/22; h: 4/6; i: 22/28; j: 2/8; k: 1/5; l: 3/13, m: 29/36, n: 7/11, o: 36/47, p: 6/16, q: 1/9 oraz r: 7/25.

Tabela 5b: Próbki wymazu z pochwy a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Próbka	Stan objawów	N	TP	FP ¹	TN	FN	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	
Pobrany przez pacjentkę	Wymaz z pochwy	Bezobj.	628	60	18 ^a	549	1	98,4% (91,2-100)	96,8% (95,0-98,1)
		Objaw.	809	111	25 ^b	669	4	96,5% (91,3-99,0)	96,4% (94,7-97,7)
Pobrany przez lekarza	Wymaz z pochwy	Bezobj.	636	59	16 ^c	559	2	96,7% (88,7-99,6)	97,2% (95,5-98,4)
		Wszystkie	1445	170	41 ^d	1228	6	96,6% (92,7-98,7)	96,8% (95,6-97,7)

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

¹Wyniki alternatywnego testu amplifikacji TMA w kierunku CT przedstawiają l. dodatnich wyników / l. przebadanych próbek: a: 15/18, b: 17/25, c: 15/16 oraz d: 32/41.

Tabela 5c: Próbki w roztworze PreservCyt a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Objaw Stan	Wynik AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)
Bezobj.	Dodatni	58	1	0	6	96,7% (88,5 - 99,6)	99,4% (98,8 - 99,8)
	Ujemny	2	1	12	1208		
	Ogółem	60	2	12	1214		
Objaw.	Dodatni	29	0	0	5	96,7% (82,8 - 99,9)	98,5% (96,5 - 99,5)
	Ujemny	1	3	4	317		
	Ogółem	30	3	4	322		
Wszystkie	Dodatni	87	1	0	11	96,7% (90,6 - 99,3)	99,2% (98,7 - 99,6)
	Ujemny	3	4	16	1525		
	Ogółem	90	5	16	1536		

+/+ = dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście ACT.

+/- = dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście ACT.

-/+ = ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście ACT.

-/- = ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście ACT.

Skuteczność testu w kierunku *C. trachomatis* dla każdego ośrodka klinicznego

Tabela 6a: Próbkę a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Próbka	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Cz. wyst. (%)	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)
Wymaz	1	157	35	6	115	1	22,9	97,2% (85,5-99,9)	95,0% (89,5-98,2)	85,4	99,1
	2	93	19	2	72	0	20,4	100% (82,4-100)	97,3% (90,6-99,7)	90,5	100
	3	248	76	5	165	2	31,5	97,4% (91,0-99,7)	97,1% (93,3-99,0)	93,8	98,8
	4	51	12	1	38	0	23,5	100% (73,5-100)	97,4% (86,5-99,9)	92,3	100
	5	138	24	0	113	1	18,1	96,0% (79,6-99,9)	100% (96,8-100)	100	99,1
	6	353	74	6	268	5	22,4	93,7% (85,8-97,9)	97,8% (95,3-99,2)	92,5	98,2
	7	25	20	0	3	2	88,0*	90,9% (70,8-98,9)	100% (29,2-100)	100	60,0
	WSZYSTKIE	1065	260	20	774	11	25,4	95,9% (92,9-98,0)	97,5% (96,1-98,5)	92,9	98,6
Mężczyzna	1	157	35	6	115	1	22,9	97,2% (85,5-99,9)	95,0% (89,5-98,2)	85,4	99,1
	2	96	22	1	73	0	22,9	100% (84,6-100)	98,6% (92,7-100)	95,7	100
	3	249	78	2	169	0	31,3	100% (95,4-100)	100% (95,8-99,9)	97,5	100
	4	51	12	0	39	0	23,5	100% (73,5-100)	98,8% (91,0-100)	100	100
	5	162	31	2	129	0	19,1	100% (88,8-100)	98,5% (94,6-99,8)	93,9	100
	6	353	74	1	273	5	22,4	93,7% (85,8-97,9)	99,6% (98,0-100)	98,7	98,2
	7	27	24	0	3	0	88,9*	100% (85,8-100)	100% (29,2-100)	100	100
	WSZYSTKIE	1095	276	12	801	6	25,8	97,9% (95,4-99,2)	98,5% (97,4-99,2)	95,8	99,3
Wymaz	1	150	34	4	110	2	24,0	94,4% (81,3-99,3)	96,5% (91,3-99,0)	89,5	98,2
	2	81	11	1	68	1	14,8	91,7% (61,5-99,8)	98,6% (92,2-100)	91,7	98,6
	3	184	51	13	114	6	31,0	89,5% (78,5-96,0)	89,8% (83,1-94,4)	79,7	95,0
	4	196	27	2	167	0	13,8	100% (87,2-100)	98,8% (95,8-99,9)	93,1	100
	5	370	27	1	341	1	7,6	96,4% (81,7-99,9)	99,7% (98,4-100)	96,4	99,7
	6	274	35	7	230	2	13,5	94,6% (81,8-99,3)	97,0% (94,0-98,8)	83,3	99,1
	7	134	10	0	124	0	7,5	100% (69,2-100)	100% (97,1-100)	100	100
	WSZYSTKIE	1389	195	28	1154	12	14,9	94,2% (90,1-97,0)	97,6% (96,6-98,4)	87,4	99,0
Kobieta	1	150	34	4	110	2	24,0	94,4% (81,3-99,3)	96,5% (91,3-99,0)	89,5	98,2
	2	81	12	1	68	0	14,8	100% (73,5-100)	98,6% (92,2-100)	92,3	100
	3	185	54	3	125	3	30,8	94,7% (85,4-98,9)	97,7% (93,3-99,5)	94,7	97,7
	4	196	24	2	167	3	13,8	88,9% (70,8-97,6)	98,8% (95,8-99,9)	92,3	98,2
	5	369	28	2	338	1	7,9	96,6% (82,2-99,9)	99,4% (97,9-99,9)	93,3	99,7
	6	276	35	1	238	2	13,4	94,6% (81,8-99,3)	99,6% (97,7-100)	97,2	99,2
	7	134	10	0	124	0	7,5	100% (69,2-100)	100% (97,1-100)	100	100
	WSZYSTKIE	1391	197	13	1170	11	15,0	94,7% (90,7-97,3)	98,9% (98,1-99,4)	93,8	99,1

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

* Częstość występowania przeszacowana z powodu ograniczenia początkowego zbierania danych do badań przesiewowych u osób z objawami.

Tabela 6b: Próbki wymazu z pochwy a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Próbka	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Cz. wyst. (%)	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)	
Pobrane przez pacjentkę	Wymaz z pochwy	1	70	14	3	53	0	20,0	100% (76,8-100)	94,6% (85,1-98,9)	82,4	100
		2	45	13	3	29	0	28,9	100% (75,3-100)	90,6% (75,0-98,0)	81,3	100
		3	45	4	2	39	0	8,9	100% (39,8-100)	95,1% (83,5-99,4)	66,7	100
		4	152	6	3	142	1	4,6	85,7% (42,1-99,6)	99,7% (94,1-99,6)	66,7	99,3
		5	130	7	3	120	0	5,4	100% (59,0-100)	97,6% (93,0-99,5)	70,0	100
		6	75	8	2	65	0	10,7	100% (63,1-100)	97,0% (89,6-99,6)	80,0	100
		7	68	5	1	62	0	7,4	100% (47,8-100)	98,4% (91,5-100)	83,3	100
		8	43	3	1	39	0	7,0	100% (29,2-100)	97,5% (86,8-99,9)	75,0	100
		WSZYSTKIE	628	60	18	549	1	9,7	98,4% (91,2-100)	96,8% (95,0-98,1)	76,9	99,8
Pobrane przez lekarza	Wymaz z pochwy	1	227	34	9	182	2	15,9	94,4% (81,3-99,3)	95,3% (91,2-97,8)	79,1	98,9
		2	196	50	5	139	2	26,5	96,2% (86,8-99,5)	96,5% (92,1-98,9)	90,9	98,6
		3	113	9	3	101	0	8,0	100% (66,4-100)	97,1% (91,8-99,4)	75,0	100
		4	262	19	11	231	1	7,6	95,0% (75,1-99,9)	95,5% (92,0-97,7)	63,3	99,6
		5	199	13	2	184	0	6,5	100% (75,3-100)	98,9% (96,2-99,9)	86,7	100
		6	296	33	9	254	0	11,1	100% (89,4-100)	96,6% (93,6-98,4)	78,6	100
		7	102	9	1	91	1	9,8	90,0% (55,5-99,7)	98,9% (94,1-100)	90,0	98,9
		8	50	3	1	46	0	6,0	100% (29,2-100)	97,9% (88,7-99,9)	75,0	100
		WSZYSTKIE	1445	170	41	1228	6	12,2	96,6% (92,7-98,7)	96,8% (95,6-97,7)	80,6	99,5

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

Tabela 6c: Próbkki w roztworze PreservCyt a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Ośrodek	Wynik AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Cz. wyst. (%)	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)
1	Dodatni	14	0	0	2	14,0	100% (76,8 - 100)	97,7% (91,9 - 99,7)	87,5	100
	Ujemny	0	0	1	83					
	Ogółem	14	0	1	85					
2	Dodatni	4	0	0	0	3,2	100% (39,8 - 100)	100% (97,0 - 100)	100	100
	Ujemny	0	0	2	118					
	Ogółem	4	0	2	118					
3	Dodatni	29	0	0	2	6,5	93,5% (78,6 - 99,2)	99,5% (98,4 - 99,9)	93,5	99,5
	Ujemny	2	0	2	440					
	Ogółem	31	0	2	442					
4	Dodatni	8	1	0	4	2,8	100% (63,1 - 100)	98,2% (95,9 - 99,4)	61,5	100
	Ujemny	0	2	1	271					
	Ogółem	8	3	1	275					
5	Dodatni	13	0	0	2	4,7	92,9% (66,1 - 99,8)	99,3% (97,5 - 99,9)	86,7	99,6
	Ujemny	1	1	4	276					
	Ogółem	14	1	4	278					
6	Dodatni	19	0	0	1	5,2	100% (82,4 - 100)	99,7% (98,4 - 100)	95,0	100
	Ujemny	0	1	6	337					
	Ogółem	19	1	6	338					
Wszystkie	Dodatni	87	1	0	11	5,5	96,7% (90,6 - 99,3)	99,2% (98,7 - 99,6)	87,9	99,8
	Ujemny	3	4	16	1525					
	Ogółem	90	5	16	1536					

+/+ = dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście ACT.

+/- = dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście ACT.

-/+ = ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście ACT.

-/- = ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście ACT.

Analiza *Chlamydia trachomatis* dla stanu zakażenia pacjentek

Tabela 7a: Wymaz z kanału szyjki macicy i próbka moczu

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1		NAAT 2		Test Aptima Combo 2		Stan objawów	
	FU	FS	FU	FS	FU	FS	Objaw.	Bezobj.
Zakażony	N/D	N/D	+	+	+	+	1	0
Zakażony	N/D	+	N/D	+	+	+	1	0
Zakażony	N/D	+	+	+	-	+	0	1
Zakażony	-	+	N/D	+	-	+	1	0
Zakażony	-	+	-	+	-	+	4	0
Zakażony	-	+	-	+	+	+	6	1
Zakażony	-	+	+	+	-	+	1	0
Zakażony	-	+	+	+	+	+	7	3
Zakażony	+	N/D	+	+	+	+	1	0
Zakażony	+	-	N/D	+	+	-	1	0
Zakażony	+	-	+	-	-	-	1	0
Zakażony	+	-	+	-	+	-	7	1
Zakażony	+	-	+	-	+	+	2	1
Zakażony	+	-	+	+	+	-	1	0
Zakażony	+	-	+	+	+	+	3	3
Zakażony	+	+	N/D	+	+	+	6	2
Zakażony	+	+	-	N/D	+	+	1	0
Zakażony	+	+	-	+	+	+	7	3
Zakażony	+	+	+	N/D	+	+	1	0
Zakażony	+	+	+	-	+	+	2	2
Zakażony	+	+	+	+	-	-	1	0
Zakażony	+	+	+	+	-	+	1	1
Zakażony	+	+	+	+	+	N/D	1	0
Zakażony	+	+	+	+	+	+	88	44
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	-	1	1
Niezakażony	-	-	-	-	-	N/D	2	1
Niezakażony	-	-	-	-	-	-	648	497
Niezakażony	-	-	-	-	-	+	18	4
Niezakażony	-	-	-	-	+	-	4	3
Niezakażony	-	-	-	-	+	+	4	2
Ogółem							822	570

FU = Mocz kobiety; FS = Wymaz z kanału szyjki macicy.

„N/D” oznacza próbkę, która nie została pobrana lub nie jest dostępna do badania.

Tabela 7b: Próbki wymazu z pochwy pobrane przez pacjentkę i przez lekarza

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1		NAAT 2 (Aptima Combo 2)		Test Aptima Combo 2		Stan objawów		Ogółem
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Objaw.	Bezobjaw.	
Zakażony	+	+	+	+	+	+	79	43	122
Zakażony	+	+	+	+	+	-	0	1	1
Zakażony	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Zakażony	+	+	+	+	N/D	-	1	0	1
Zakażony	+	-	+	+	+	+	8	5	13
Zakażony	+	-	+	+	-	-	1	0	1
Zakażony	+	-	+	+	N/D	+	1	0	1
Zakażony	+	=	+	+	+	+	1	0	1
Zakażony	-	+	+	+	+	+	8	3	11
Zakażony	-	+	+	+	-	-	1	0	1
Zakażony	-	-	+	+	+	+	1	2	3
Zakażony	-	N/D	+	+	+	+	1	0	1
Zakażony	+	+	+	-	+	+	5	3	8
Zakażony	+	-	+	-	+	+	5	0	5
Zakażony	+	-	+	-	-	+	2	0	2
Zakażony	+	+	-	+	+	+	0	1	1
Zakażony	-	+	-	+	+	+	1	4	5
Zakażony	-	+	-	+	+	-	1	0	1
Zakażony	-	+	-	+	-	-	0	1	1
Niezakażony	-	-	+	-	+	+	0	4	4
Niezakażony	-	-	+	-	+	-	2	1	3
Niezakażony	-	-	+	-	-	+	2	1	3
Niezakażony	-	-	+	-	-	-	6	4	10
Niezakażony	-	-	+	-	N/D	+	1	0	1
Niezakażony	-	-	+	-	N/D	-	1	0	1
Niezakażony	-	-	-	+	+	+	4	2	6
Niezakażony	-	-	-	+	+	-	1	0	1
Niezakażony	-	-	-	+	-	-	0	2	2
Niezakażony	+	-	-	-	-	-	1	1	2
Niezakażony	-	+	-	-	-	-	1	2	3
Niezakażony	-	-	-	-	+	+	3	2	5
Niezakażony	-	-	-	-	+	-	2	7	9
Niezakażony	-	-	-	-	-	+	12	3	15
Niezakażony	-	-	-	-	-	-	623	516	1139
Niezakażony	-	-	-	-	-	N/D	0	2	2
Niezakażony	-	-	-	-	-	=	1	0	1
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	+	0	1	1
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	-	11	8	19
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	N/D	1	0	1
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	=	0	1	1
Niezakażony	-	-	-	-	=	+	0	1	1
Niezakażony	-	N/D	-	-	-	-	2	2	4
Niezakażony	-	N/D	-	-	N/D	-	0	1	1
Niezakażony	-	=	-	-	-	-	12	9	21
Niezakażony	-	=	-	-	-	N/D	0	1	1
Niezakażony	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	-	0	1	1

Tabela 7b: Próbki wymazu z pochwy pobrane przez pacjentkę i przez lekarza (ciąg dalszy)

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1		NAAT 2 (Aptima Combo 2)		Test Aptima Combo 2		Stan objawów		Ogółem
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Objaw.	Bezobjaw.	
Niezakażony	-	-	N/D	-	-	-	5	4	9
Niezakażony	-	-	=	-	-	+	1	0	1
Niezakażony	-	-	=	-	-	-	1	0	1
Ogółem							811	640	1451

FS = Wymaz z kanału szyjki macicy; FU = Mocz kobiety; PVS = Wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę bez objawów; CVS = Wymaz z pochwy pobrany przez lekarza. „N/D” oznacza próbkę, która nie została pobrana lub nie jest dostępna do badania. Symbol równości (=) oznacza niejednoznaczność w powtórnym badaniu.

Tabela 7c: Wyniki testów na obecność *C. trachomatis* dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt w badaniu klinicznym pacjentów o stanie zakażonym

Stan zakażenia pacjenta	Wynik dla próbki wymazu z kanału szyjki macicy		Stan objawów	
	AC2	ACT	Objaw.	Bezobjaw.
Zakażony	+	+	30	60
Niezakażony	-	+	4	12
Niezakażony	+	-	3	2
Niezakażony	-	-	322	1214
Ogółem			359	1288

Analiza *C. trachomatis* dla stanu zakażenia pacjentów**Tabela 8: Analiza wymazu z cewki moczowej i moczu w kierunku *C. trachomatis* według stanu zakażenia pacjentów**

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1		NAAT 2	Test Aptima Combo 2		Stan objawów	
	MU	MS	MU	MU	MS	Objaw.	Bezobj.
Zakażony	N/D	+	+	+	+	2	0
Zakażony	-	+	+	+	+	10	4
Zakażony	+	N/D	+	+	N/D	4	6
Zakażony	+	N/D	+	+	-	2	0
Zakażony	+	N/D	+	+	+	21	1
Zakażony	+	-	+	+	-	3	3
Zakażony	+	-	+	+	+	4	3
Zakażony	+	+	N/D	-	+	1	0
Zakażony	+	+	N/D	+	+	8	2
Zakażony	+	+	-	+	+	12	4
Zakażony	+	+	+	-	-	1	0
Zakażony	+	+	+	-	+	1	3
Zakażony	+	+	+	+	N/D	1	0
Zakażony	+	+	+	+	-	1	1
Zakażony	+	+	+	+	+	131	53
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	0	2
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	13	8
Niezakażony	-	-	-	-	-	461	303
Niezakażony	-	-	-	-	+	10	5
Niezakażony	-	-	-	+	-	3	4
Niezakażony	-	-	-	+	+	5	0
Ogółem						694	402

MU = Mocz mężczyzny; MS = Wymaz z męskiej cewki moczowej.

„N/D” oznacza próbkę, która nie została pobrana lub nie jest dostępna do badania.

Tabele skuteczności dla *Neisseria gonorrhoeae*Czułość i swoistość dla *N. gonorrhoeae*

Tabela 9a: Próbkę a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Próbka	Objawy	N	TP	FP ^a	TN	FN	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	
Mężczyzna	Wymaz	Objaw.	724	304	5 ^a	412	3	99,0% (97,2-99,8)	98,8% (97,2-99,6)
		Bezobj.	378	15	12 ^b	351	0	100% (78,2-100)	96,7% (94,3-98,3)
		Wszystkie ¹	1103	319	17 ^c	764	3	99,1% (97,3-99,8)	97,8% (96,5-98,7)
	Mocz	Objaw.	750	311	1 ^d	433	5	98,4% (96,3-99,5)	99,8% (98,7-100)
		Bezobj.	383	13	2 ^e	368	0	100% (75,3-100)	99,5% (98,1-99,9)
		Wszystkie ¹	1134	324	3 ^f	802	5	98,5% (96,5-99,5)	99,6% (98,9-99,9)
Kobieta	Wymaz	Objaw.	881	94	15 ^a	772	0	100% (96,2-100)	98,1% (96,9-98,9)
		Bezobj.	596	31	2 ^h	562	1	96,9% (83,8-99,9)	99,6% (98,7-100)
		Wszystkie ²	1479	126	17 ⁱ	1335	1	99,2% (95,7-100)	98,7% (98,0-99,3)
	Mocz	Objaw.	883	87	7 ^j	782	7	92,6% (85,3-97,0)	99,1% (98,2-99,6)
		Bezobj.	599	28	3 ^k	564	4	87,5% (71,0-96,5)	99,5% (98,5-99,9)
		Wszystkie ²	1484	116	10 ^l	1347	11	91,3% (85,0-95,6)	99,3% (98,6-99,6)
Ogółem	Wymaz	Objaw.	1605	398	20 ^m	1184	3	99,3% (97,8-99,8)	98,3% (97,4-99,0)
		Bezobj.	974	46	14 ⁿ	913	1	97,9% (88,7-99,9)	98,5% (97,5-99,2)
		Wszystkie ³	2582	445	34 ^o	2099	4	99,1% (97,7-99,8)	98,4% (97,8-98,9)
	Mocz	Objaw.	1633	398	8 ^p	1215	12	97,1% (94,9-98,5)	99,3% (98,7-99,7)
		Bezobj.	982	41	5 ^q	932	4	91,1% (78,8-97,5)	99,5% (98,8-99,8)
		Wszystkie ³	2618	440	13 ^r	2149	16	96,5% (94,4-98,0)	99,4% (99,0-99,7)

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

¹Obejmuje 1 uczestnika płci męskiej, u którego nie odnotowano objawów.

²Obejmuje 1 uczestniczkę płci żeńskiej, u której nie odnotowano objawów.

³Obejmuje 1 uczestnika płci męskiej i 1 uczestniczkę płci żeńskiej, u których nie odnotowano objawów.

⁴ Wyniki alternatywnego testu TMA w kierunku GC przedstawiają l. dodatnich wyników / l. przebadanych próbek: a: 5/5, b: 12/12, c: 17/17, d: 0/1, e: 2/2, f: 2/3, g: 13/15, h: 2/2, i: 15/17, j: 4/7, k: 0/2, l: 4/9, m: 18/20, n: 14/14, o: 32/34, p: 4/8, q: 2/4 oraz r: 6/12.

Tabela 9b: Próbkę wymazu z pochwy a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Próbka	Objaw Stan	N	TP	FP ¹	TN	FN	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	
Pobraną przez pacjentkę	Wymaz z pochwy	Bezobj.	629	21	3 ^a	605	0	100% (83,9-100)	99,5% (98,6-99,9)
Pobraną przez lekarza	Wymaz z pochwy	Objaw.	807	51	7 ^b	747	2	96,2% (87,0-99,5)	99,1% (98,1-99,6)
		Bezobj.	637	21	4 ^c	611	1	95,5% (77,2-99,9)	99,3% (98,3-99,8)
		Wszystkie	1444	72	11 ^d	1358	3	96,0% (88,8-99,2)	99,2% (98,6-99,6)

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

¹ Wyniki alternatywnego testu amplifikacji TMA w kierunku GC przedstawiają l. dodatnich wyników / l. przebadanych próbek: a: 3/3, b: 6/7, c: 3/4 oraz d: 9/11.

Tabela 9c: Próbki w roztworze PreservCyt a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Objaw Stan	Wynik AC2/GC PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)
Bezobj.	Dodatni	5	0	1 ¹	3	83,3% (35,9 - 99,6)	99,7% (99,2 - 99,9)
	Ujemny	1	0	5	1273		
	Ogółem	6	0	6	1276		
Objaw.	Dodatni	7	0	0	0	100% (59,0 - 100)	100% (99,0 - 100)
	Ujemny	0	0	0	352		
	Ogółem	7	0	0	352		
Wszystkie	Dodatni	12	0	1	3	92,3% (64,0 - 99,8)	99,8% (99,4 - 99,9)
	Ujemny	1	0	5	1625		
	Ogółem	13	0	6	1628		

¹ 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.

+/+ = dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AGC.

+/- = dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AGC.

-/+ = ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AGC.

-/- = ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AGC.

Skuteczność testu w kierunku *Neisseria gonorrhoeae* dla każdego ośrodka klinicznego

Tabela 10a: Próbkę a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Próbka	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Cz. wyst. (%)	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)	
Mężczyzna	Wymaz	1	159	56	1	101	1	35,8	98,2% (90,6-100)	99,0% (94,7-100)	98,2	99,0
		2	97	13	0	84	0	13,4	100% (75,3-100)	100% (95,7-100)	100	100
		3	264	71	6	187	0	26,9	100% (94,9-100)	96,9% (93,4-98,9)	92,2	100
		4	53	20	0	33	0	37,7	100% (83,2-100)	100% (89,4-100)	100	100
		5	139	12	0	127	0	8,6	100% (73,5-100)	100% (97,1-100)	100	100
		6	336	94	10	231	1	28,3	98,9% (94,3-100)	95,9% (92,5-98,0)	90,4	99,6
		7	55	53	0	1	1	98,2*	98,1% (90,1-100)	100% (2,5-100)	100	50,0
		WSZYSTKIE	1103	319	17	764	3	29,2	99,1% (97,3-99,8)	97,8% (96,5-98,7)	94,9	99,6
Mężczyzna	Mocz	1	161	57	0	103	1	36,0	98,3% (90,8-100)	100% (96,5-100)	100	99,0
		2	104	19	0	85	0	18,3	100% (82,4-100)	100% (95,8-100)	100	100
		3	265	71	2	192	0	26,8	100% (94,9-100)	99,0% (96,3-99,9)	97,3	100
		4	53	20	0	33	0	37,7	100% (83,2-100)	100% (89,4-100)	100	100
		5	160	14	0	146	0	8,8	100% (76,8-100)	100% (97,5-100)	100	100
		6	335	89	1	241	4	27,8	95,7% (89,4-98,8)	99,6% (97,7-100)	98,9	98,4
		7	56	54	0	2	0	96,4*	100% (93,4-100)	100% (15,8-100)	100	100
		WSZYSTKIE	1134	324	3	802	5	29,0	98,5% (96,5-99,5)	99,6% (98,9-99,9)	99,1	99,4
Kobieta	Wymaz	1	196	30	2	164	0	15,3	100% (88,4-100)	98,8% (95,7-99,9)	93,8	100
		2	83	9	1	72	1	12,0	90,0% (55,5-99,7)	98,6% (92,6-100)	90,0	98,6
		3	191	31	2	158	0	16,2	100% (88,8-100)	98,8% (95,6-99,8)	93,9	100
		4	215	7	0	208	0	3,3	100% (59,0-100)	100% (98,2-100)	100	100
		5	382	8	1	373	0	2,1	100% (63,1-100)	99,7% (98,5-100)	88,9	100
		6	278	36	8	234	0	12,9	100% (90,3-100)	96,7% (93,6-98,6)	81,8	100
		7	134	5	3	126	0	3,7	100% (47,8-100)	97,7% (93,4-99,5)	62,5	100
		WSZYSTKIE	1479	126	17	1335	1	8,6	99,2% (95,7-100)	98,7% (98,0-99,3)	88,1	99,9
Kobieta	Mocz	1	196	24	2	164	6	15,3	80,0% (61,4-92,3)	98,8% (95,7-99,9)	92,3	96,5
		2	83	9	1	72	1	12,0	90,0% (55,5-99,7)	98,6% (92,6-100)	90,0	98,6
		3	191	30	2	158	1	16,2	96,8% (83,3-99,9)	98,8% (95,6-99,8)	93,8	99,4
		4	215	5	2	206	2	3,3	71,4% (29,0-96,3)	99,0% (96,6-99,9)	71,4	99,0
		5	383	8	0	375	0	2,1	100% (63,1-100)	100% (99,0-100)	100	100
		6	282	35	2	244	1	12,8	97,2% (85,5-99,9)	99,2% (97,1-99,9)	94,6	99,6
		7	134	5	1	128	0	3,7	100% (47,8-100)	99,2% (95,8-100)	83,3	100
		WSZYSTKIE	1484	116	10	1347	11	8,6	91,3% (85,0-95,6)	99,3% (98,6-99,6)	92,1	99,2

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

* Częstość występowania przeszacowana z powodu ograniczenia początkowego zbierania danych do badań przesiewowych u osób z objawami.

Tabela 10b: Próbki wymazu z pochwy a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Próbka	Ośrodek	N	TP	FP	TN	FN	Cz. wyst. (%)	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)	
Pobrane przez pacjentkę	Wymaz z pochwy	1	70	5	1	65	0	7,1	100% (47,8 - 100)	98,5 (91,7 - 100)	83,3	100
		2	46	7	0	39	0	15,2	100% (59,0 - 100)	100% (91,0 - 100)	100	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
		WSZYSTKIE	629	21	3	605	0	3,3	100% (83,9 - 100)	99,5 (98,6 - 99,9)	87,5	100
Pobrane przez lekarza	Wymaz z pochwy	1	227	12	3	212	0	5,3	100% (73,5 - 100)	98,6% (96,0 - 99,7)	80,0	100
		2	196	31	2	163	0	15,8	100% (88,8 - 100)	98,8% (95,7 - 99,9)	93,9	100
		3	113	3	0	109	1	3,5	75,0% (19,4 - 99,4)	100% (96,7 - 100)	100	99,1
		4	262	5	2	255	0	1,9	100% (47,8 - 100)	99,2% (97,2 - 99,9)	71,4	100
		5	198	2	0	196	0	1,0	100% (15,8 - 100)	100% (98,1 - 100)	100	100
		6	296	18	4	272	2	6,8	90,0% (68,3 - 98,8)	98,6% (96,3 - 99,6)	81,8	99,3
		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
		WSZYSTKIE	1444	72	11	1358	3	5,2	96,0% (88,8 - 99,2)	99,2% (98,6 - 99,6)	86,7	99,8

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

Tabela 10c: Próbkę w roztworze PreservCyt a stan zakażenia pacjentki w teście Aptima Combo 2

Ośrodek	Wynik AC2/GC PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Cz. wyst. (%)	Czułość (95% C.I.)	Swoistość (95% C.I.)	PPV (%)	NPV (%)
1	Dodatni	5	0	0	0	5,0	100% (47,8 - 100)	100% (96,2 - 100)	100	100
	Ujemny	0	0	0	95					
	Ogółem	5	0	0	95					
2	Dodatni	1	0	0	0	0,8	100% (2,5 - 100)	100% (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% (28,4 - 99,5)	100% (99,2 - 100)	100	99,8
	Ujemny	1	0	0	470					
	Ogółem	5	0	0	470					
4	Dodatni	1	0	0	0	0,3	100% (2,5 - 100)	100% (98,7 - 100)	100	100
	Ujemny	0	0	3	283					
	Ogółem	1	0	3	283					
5	Dodatni	0	0	0	3	0,0	N/D	99,0% (97,1 - 99,8)	0,0	100
	Ujemny	0	0	0	294					
	Ogółem	0	0	0	297					
6	Dodatni	1	0	1 ¹	0	0,3	100% (2,5 - 100)	99,7% (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% (64,0 - 99,8)	99,8% (99,4 - 99,9)	75,0	99,9
	Ujemny	1	0	5	1625					
	Ogółem	13	0	6	1628					

¹ 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.

+/+ = dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AGC.

+/- = dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AGC.

-/+ = ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / dodatni wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AGC.

-/- = ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AC2 / ujemny wynik próbki wymazu z kanału szyjki macicy w teście AGC.

Analiza *Neisseria gonorrhoeae* dla stanu zakażenia pacjentek

Tabela 11a: Wymaz z kanału szyjki macicy i próbka moczu

Stan zakażenia pacjenta	NAAT		Hodowla	Test Aptima Combo 2		Stan objawów	
	FU	FS	FS	FU	FS	Objaw.	Bezobjaw.
Zakażony	N/D	+	+	+	+	1	1
Zakażony	-	-	+	-	-	0	1
Zakażony	-	+	+	-	+	5	2
Zakażony	-	+	+	+	+	9	2
Zakażony	+	N/D	+	+	+	1	0
Zakażony	+	-	+	+	+	3	1
Zakażony	+	+	N/D	+	+	0	1
Zakażony	+	+	-	+	+	11	2
Zakażony	+	+	+	-	+	2	1
Zakażony	+	+	+	+	+	62	21
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	2	3
Niezakażony	-	-	-	-	-	768	559
Niezakażony	-	-	-	-	+	12	2
Niezakażony	-	-	-	+	-	4	3
Niezakażony	-	-	-	+	+	3	0
Ogółem						883	599

FU = Mocz kobiety; FS = Wymaz z kanału szyjki macicy.

„N/D” oznacza próbkę, która nie została pobrana lub nie jest dostępna do badania.

Tabela 11b: Analiza dla próbek wymazu z pochwy pobranych przez pacjentkę i przez lekarza

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1		NAAT 2		Test Aptima Combo 2		Stan objawów		Ogółem
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Objaw.	Bezobj.	
Zakażony	+	+	+	+	+	+	44	15	59
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	+	-	+	-	+	+	1	1	2
Zakażony	+	-	+	-	+	-	1	0	1
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	0	2
Niezakażony	-	-	-	-	+	-	1	1	2
Niezakażony	-	-	-	-	-	+	2	2	4
Niezakażony	-	-	-	-	-	-	698	577	1275
Niezakażony	-	-	-	-	-	N/D	0	2	2
Niezakażony	-	-	-	-	-	=	2	0	2
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	-	15	9	24
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	-	-	-	5	4	9
Niezakażony	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Ogółem							810	640	1450

FS = Wymaz z kanału szyjki macicy; FU = Mocz kobiety; PVS = Wymaz z pochwy pobrany przez pacjentkę bez objawów; CVS = Wymaz z pochwy pobrany przez lekarza; „N/D” oznacza próbkę, która nie została pobrana lub nie jest dostępna do badania. Symbol równości (=) oznacza niejednoznaczność w powtórnym badaniu.

Analiza *N. gonorrhoeae* dla stanu zakażenia pacjentek**Tabela 11c: Wyniki testów na obecność *N. gonorrhoeae* dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt w badaniu klinicznym pacjentów o stanie zakażonym**

Stan zakażenia pacjenta	Wynik dla próbki wymazu z kanału szyjki macicy		Stan objawów	
	AC2	AGC	Objaw.	Bezobjaw.
Zakażony	+	+	7	6
Niezakażony	=	+	0	1
Niezakażony	-	+	0	5
Niezakażony	-	-	352	1276
Ogółem			359	1288

Analiza *N. gonorrhoeae* dla stanu zakażenia pacjentów**Tabela 12: Wymaz z cewki moczowej i próbka moczu**

Stan zakażenia pacjenta	NAAT 1		Hodowla	Test Aptima Combo 2		Stan objawów	
	MU	MS	MS	MU	MS	Objaw.	Bezobjaw.
Zakażony	N/D	+	+	+	+	1	0
Zakażony	-	N/D	+	N/D	+	0	1
Zakażony	-	N/D	+	+	+	1	0
Zakażony	-	-	+	-	-	1	0
Zakażony	-	+	+	+	+	4	1
Zakażony	+	N/D	+	N/D	+	0	1
Zakażony	+	N/D	+	+	N/D	8	0
Zakażony	+	N/D	+	+	-	1	0
Zakażony	+	N/D	+	+	+	50	1
Zakażony	+	-	+	+	+	4	1
Zakażony	+	+	N/D	+	+	1	0
Zakażony	+	+	-	+	+	11	1
Zakażony	+	+	+	-	-	1	0
Zakażony	+	+	+	-	+	3	0
Zakażony	+	+	+	+	N/D	1	0
Zakażony	+	+	+	+	+	229	9
Niezakażony	-	-	-	N/D	-	0	1
Niezakażony	-	-	-	N/D	+	0	1
Niezakażony	-	-	-	-	N/D	17	9
Niezakażony	-	-	-	-	-	411	349
Niezakażony	-	-	-	-	+	5	10
Niezakażony	-	-	-	+	-	1	1
Niezakażony	-	-	-	+	+	0	1
Ogółem						750	387

MU = Mocz mężczyzny; **MS** = Wymaz z męskiej cewki moczowej; N/D = Próbkę nie została pobrana lub nie jest dostępna do badania.

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 testów Aptima Combo 2 wykonanych podczas badań klinicznych próbek został przedstawiony w Tabeli 13.

Tabela 13: Rozkład łącznej wartości RLU kontroli testu Aptima Combo 2

Kontrola	Statystyka	Łączna wartość RLU (x 1000)		
		Badanie kliniczne próbek wymazu z kanału szyjki macicy, męskiej cewki moczowej oraz moczu	Badanie kliniczne próbek wymazu z pochwy	Badania kliniczne płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt
Kontrola dodatnia, CT / Kontrola ujemna, GC	Wartość maksymalna	1572	1996	1747
	75. percentyl	1160	1279	1264
	Mediana	1063	1135	1165
	25. percentyl	996	933	1024
	Wartość minimalna	274	174	494
Kontrola dodatnia, GC / Kontrola ujemna, CT	Wartość maksymalna	1359	1420	1438
	75. percentyl	1202	1255	1288
	Mediana	1093	1169	1201
	25. percentyl	989	1084	1099
	Wartość minimalna	167	249	166

Badanie precyzji

Badanie precyzji zostało przeprowadzone w trzech miejscach w celu uzyskania miar powtarzalności i odtwarzalności. Badania precyzji przeprowadzono w ramach badania klinicznego dotyczącego wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z cewki moczowej u mężczyzn i próbki moczu oraz badania klinicznego płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt. W przypadku pierwszego badania, każdy ośrodek otrzymał trzy identyczne panele 13 próbek zawierających od 0 do 500 fg rRNA CT, od 0 do 25 000 fg rRNA GC lub kombinacje zarówno rRNA CT, jak i GC. Badanie przeprowadzono w ciągu trzech dni, stosując każdego dnia inną partię zestawu testowego. Statystyki opisowe ogólnej wartości RLU, wewnątrz serii, między seriami i między ośrodkami zostały podsumowane w Tabeli 14a.

W przypadku ostatniego badania precyzji, odtwarzalność została ustalona na 12-elementowym panelu wygenerowanym przez dodanie do roztworu PreservCyt od 0 do 2 000 fg/test rRNA CT i od 0 do 5 000 fg/test rRNA GC i przeniesienie 1,0 mL do probówki do przenoszenia próbek Aptima. Dwóch (2) operatorów w każdym z trzech ośrodków wykonało po jednej serii dziennie w ciągu każdego z trzech dni, w sumie trzy ważne serie na operatora. Badanie zostało przeprowadzone przy użyciu jednej partii zestawu testowego. Wyniki badania precyzji zostały podsumowane w Tabeli 14b.

Dla obu badań odtwarzalność została ustalona poprzez dodanie rRNA do odpowiedniego podłoża transportowego (STM, roztwór PreservCyt). Nie określono odtwarzalności podczas badania wymazów, moczu lub płynnych próbek klinicznych Pap w roztworze PreservCyt zawierających szukane mikroorganizmy.

Tabela 14a: Podłoże transportowe do wymazów

Element panelu	N	Średnie RLU (x1000)	Wewnątrz serii		Pomiędzy seriami		Pomiędzy ośrodkami		
			SD (RLU)	CV (%)	SD (RLU)	CV (%)	SD (RLU)	CV (%)	
Wysokie	Wymaz CT	54	1 055	76 588	7,3	83 711	7,9	150 332	14,2
	Podwójny wymaz*	54	2 338	93 449	4,0	90 317	3,9	142 898	6,1
	Podwójna próbka moczu*	54	2 281	91 487	4,0	106 715	4,7	152 747	6,7
Środkowy	Wymaz GC	54	1 265	30 561	2,4	55 642	4,4	34 413	2,7
	Wymaz CT	54	1 001	69 831	7,0	77 701	7,8	159 774	16,0
	Podwójny wymaz*	54	2 241	152 377	6,8	58 353	2,6	139 983	6,2
Niskie	Wymaz GC	54	1 249	35 142	2,8	60 638	4,9	46 364	3,7
	Wymaz CT	54	1 013	61 795	6,1	90 906	9,0	131 207	13,0
	Podwójny wymaz*	54	2 085	286 034	13,7	161 764	7,8	58 837	2,8
Ujemny	Podwójna próbka moczu*	54	2 201	95 705	4,3	118 760	5,4	106 802	4,9
	Wymaz GC	54	1 177	42 478	3,6	69 821	5,9	29 836	2,5
	Wymaz	54	7	1 301	18,3	2 311	32,5	1 901	26,8
	Mocz	54	7	861	12,0	2 299	32,1	1 994	27,9

* Podwójne dodatnie elementy panelu zawierają zarówno rRNA CT, jak i GC.

Tabela 14b: Roztwór PreservCyt

Stężenie (fg/test)		N	Zgodność	Średnie RLU (x1000)	Wewnątrz serii		Pomiędzy seriami		Pomiędzy ośrodkami		Pomiędzy operatorami	
CT	GC				SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
0	0	162	97,5%	9,7	31,6	N/D	3,4	N/D	6,4	N/D	4,7	N/D
0	5 000	54	96,3%	1296	146	11,3	54,8	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0
2 000	0	54	100%	1140	54,1	4,7	79,8	7,0	101	8,9	2,4	0,2
2 000	5 000	54	100%	2345	79,6	3,4	78,0	3,3	94,7	4,0	37,9	1,6
0	250	54	100%	953	114	12,0	0,0	0,0	161	16,9	90,7	9,5
5	0	54	100%	971	58,3	6,0	71,7	7,4	22,8	2,4	85,0	8,8
1 000	2 500	54	100%	2294	114	5,0	88,9	3,9	153	6,7	0,0	0,0
100	250	54	98,1%	1911	139	7,3	130	6,8	348	18,2	39,7	2,1
5	5 000	54	100%	2136	113	5,3	130	6,1	98,8	4,6	166	7,8
2 000	250	54	96,3%	2044	138	6,7	169	8,3	360	17,6	26,9	1,3

RLU = Jednostki względne światła; SD = Odchylenie standardowe; CV = Współczynnik zmienności; N/D oznacza próbkę nie mającą zastosowania w przypadku ujemnych elementów panelu.

Próbki z niezgodnymi i niejednoznaczными wynikami zostały włączone do analizy zmienności sygnału.

Dla wartości CV i SD równych 0,0 zmienność wynikająca z tego źródła jest bardzo mała w porównaniu z innymi źródłami zmienności.

Skuteczność analityczna testu Aptima Combo 2

Uwaga: Poniższe wyniki zostały uzyskane przy użyciu oryginalnej wersji testu Aptima Combo 2 z wykorzystaniem systemu DTS.

Specyficzna dla systemu Tigris DTS skuteczność analityczna opisana jest w sekcji *Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS* następującej po sekcji *Zgodność próbek klinicznych w systemie Tigris DTS*.

Specyficzna dla Panther System skuteczność analityczna opisana jest w sekcji *Skuteczność analityczna Panther System*.

Czułość analityczna

Czułość analityczna *Chlamydia trachomatis* (granice wykrywalności) została określona przez bezpośrednie porównanie rozcieńczeń mikroorganizmów CT w hodowli komórkowej i w teście. Czułość analityczna dla testu wynosi jedną jednostkę tworzącą inkluzję (IFU) na test (7,25 IFU/wymaz, 5,0 IFU/mL moczu, 9,75 IFU/mL płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt) dla wszystkich 15 serotypów CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 i L3). Jednakże rozcieńczenia mniejsze niż 1,0 IFU/test wszystkich serotypów dały wyniki dodatnie w teście Aptima Combo 2.

Czułość analityczna dla *Neisseria gonorrhoeae* została ustalona poprzez bezpośrednie porównanie rozcieńczeń 57 różnych klinicznych izolatów w hodowli oraz w teście Aptima Combo 2 przy użyciu próbek wymazów i moczu oraz 20 klinicznych izolatów przy użyciu płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. Czułość analityczna dla testu wynosi 50 komórek/test (362 komórki/wymaz, 250 komórek/mL moczu, 488 komórek/mL płynnej próbki Pap w roztworze PreservCyt). Jednakże wszystkie badane szczepy dały wyniki dodatnie przy mniej niż 50 komórkach/test.

Swoistość analityczna

W dwóch badaniach przy użyciu testu Aptima Combo 2 oceniono łącznie 198 mikroorganizmów. Wstępne badania obejmowały 154 izolaty z hodowli, w których znajdowało się 86 mikroorganizmów, które można wyizolować z dróg moczowo-płciowych oraz 68 dodatkowych, reprezentujących przekrój filogenetyczny mikroorganizmów. Dodatkowe badanie próbek pozagenitalnych obejmowało 44 mikroorganizmy, które mogą znajdować się na wymazach pozagenitalnych. Wśród badanych mikroorganizmów znalazły się bakterie, grzyby, drożdże, pasożyty i wirusy.

W badaniu wstępnym wszystkie mikroorganizmy z wyjątkiem *C. psittaci*, *C. pneumoniae* i wirusów były badane w stężeniu $1,0 \times 10^6$ komórek/test zarówno na podłożu do transportu wymazów, jak i moczu. Mikroorganizmy z rodzaju *Chlamydia* i *Neisseria* badano na podłożu z roztworem PreservCyt. *C. psittaci* i *C. pneumoniae* badano w stężeniu $1,0 \times 10^5$ IFU/test. Wirusy badano w następujący sposób: (a) wirus opryszczki pospolitej typu I i II: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) wirus brodawczaka ludzkiego typu 16: $2,9 \times 10^6$ kopii DNA/test oraz (c) cytomegalowirus: $4,8 \times 10^5$ zainfekowanych komórek hodowli/test.

W drugim badaniu wszystkie mikroorganizmy były badane w STM. Wszystkie izolaty niewirusowe były badane w stężeniu $1,0 \times 10^6$ CFU/mL, z wyjątkiem *Bacteriodes oralis*, *Fusobacterium necrophorum* i *Peptostreptococcus micros*, które były badane w stężeniu $1,0 \times 10^6$ kopii RNA/mL. Wirusy badano w stężeniu $1,0 \times 10^5$ TCID₅₀/mL, z wyjątkiem Norowirusa grupy II: $1,0 \times 10^6$ TCID₅₀/mL, Enterowirusy typu 68: $1,0 \times 10^4$ TCID₅₀/mL oraz wirusy grypy, które były badane w stężeniu $2,0 \times 10^3$ TCID₅₀/mL. Tylko próbki CT i GC dały dodatnie wyniki w teście Aptima Combo 2. Lista mikroorganizmów badanych w pierwszym badaniu znajduje się w Tabeli 15, a lista mikroorganizmów badanych w drugim badaniu znajduje się w Tabeli 16.

Tabela 15: 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>	Wirus brodawczaka ludzkiego 16	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Kingella denitrificans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteriodes ureolyticus</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Bifidobacterium brevi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus jensonii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella pneumophila</i> (2)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Leuconostoc paramensenteroides</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Chlamydia psittaci</i> (2)	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Serogrupa A <i>N. meningitidis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
Cytomegalowirus	Serogrupa B <i>N. meningitidis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	Serogrupa C <i>N. meningitidis</i> (4)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Derxia gummosa</i>	Serogrupa D <i>N. meningitidis</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	Serogrupa Y <i>N. meningitidis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Serogrupa W135 <i>N. meningitidis</i>	<i>Streptomyces griseinus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria cinerea</i> (4)	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria denitrificans</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)” oznacza liczbę badanych szczepów.

Wszystkie badane mikroorganizmy dały wynik ujemny w teście Aptima Combo 2 w oparciu o typ profilu kinetycznego i RLU.

Tabela 16: Mikroorganizmy powodujące reaktywność krzyżową w próbkach pobranych z gardła i odbytu

Mikroorganizm	Mikroorganizm	Mikroorganizm
Adenowirus	<i>Eggerthella lenta</i>	Metapneumowirus
<i>Anaerococcus spp.</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	Enterowirus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Bacteroides oralis</i>	Wirus Epsteina-Barr	Norowirus
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Prevotella spp.</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	Syncytialny wirus oddechowy
<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Rinowirus
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	Wirus zapalenia wątroby typu B	<i>Shigella flexneri</i>
Koronawirus	Wirus zapalenia wątroby typu C	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Wirus grypy typu A	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	Wirus grypy typu B	<i>Streptococcus anginosus group</i>
Koksakiwirus	<i>Legionella jordanis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
Wirus Echo	<i>Legionella micdadei</i>	

Substancje zakłócające

Następujące substancje zakłócające były pojedynczo dodawane do próbek wymazu i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt: 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 badano pod kątem potencjalnego zakłócenia testu w nieobecności i obecności CT i GC przy szacowanym odpowiedniku rRNA 1,0 CT IFU/test (5 fg/test) i 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 Combo 2 nie zaobserwowano inhibitorów amplifikacji.

Odzysk

Escherichia coli i *Gardnerella vaginalis* ($2,4 \times 10^5$ komórek/test) oraz *Lactobacillus acidophilus*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides ureolyticus* i *Staphylococcus epidermis* ($1,0 \times 10^8$ komórek/test) zostały dodane do próbek zawierające odpowiednik rRNA w stężeniu około 1,0 CT IFU (5 fg) oraz 50 komórek GC (250 fg). Dodatki te nie zakłócały amplifikacji i wykrywania rRNA CT lub GC przy użyciu testu Aptima Combo 2.

Badania stabilności próbek

A. Próbki wymazów z kanału szyjki macicy

Dane wspierające zalecane warunki transportu i przechowywania próbek wymazów z kanału szyjki macicy zostały wygenerowane na podstawie zbioru ujemnych próbek wymazów. Do pięciu próbek dodano CT i GC w końcowych stężeniach, odpowiednio, 10 IFU i 100 CFU na reakcję. Próbki z domieszką przechowywano w temperaturze -70°C , -20°C , 4°C i 30°C . Próbki badano w dwóch egzemplarzach w dniach 0, 20, 35, 60 i 90. Wszystkie warunki badania były dodatnie zarówno dla CT, jak i GC we wszystkich czasach i temperaturach.

B. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt

Dane potwierdzające zalecane warunki transportu i przechowywania płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt zostały wygenerowane na podstawie zbioru ujemnych płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. Do czterech próbek dodano CT i GC w końcowych stężeniach, odpowiednio, 10 IFU i 100 CFU na reakcję. Płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt umieszczano w temperaturze 30°C na 7 dni, po czym do próbki do przenoszenia próbek Aptima dodano 1,0 mL próbki. Probki z domieszką przechowywano w temperaturze 4°C, 10°C i 30°C. Probki przechowywane w temperaturze 4°C i 10°C zbadano w dwóch egzemplarzach w dniach 0, 6, 13, 26, 30 i 36. Probki przechowywane w temperaturze 30°C zbadano w dwóch egzemplarzach w dniach 0, 5, 8, 14 i 17. Cztery pule płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt z domieszką zostały przeniesione do probówek do przenoszenia próbek Aptima i umieszczone w temperaturze 30°C na 14 dni przed przechowywaniem w temperaturze -20°C lub -70°C. Probki w temperaturze -20°C oraz w temperaturze -70°C zostały zbadane w dwóch egzemplarzach po 0, 30, 60, 90 i 106 dniach przechowywania. Wszystkie warunki badania były dodatnie zarówno dla CT, jak i GC we wszystkich czasach i temperaturach.

C. Probki wymazów z pochwy

Dane wspierające zalecane warunki transportu i przechowywania próbek wymazów z pochwy zostały wygenerowane na podstawie zbioru ujemnych próbek wymazów. Do piętnastu pul próbek wymazów z pochwy dodano CT i GC w końcowych stężeniach, odpowiednio, 1,0 IFU i 50 CFU na reakcję. Probki z domieszką przechowywano w temperaturze -70°C, -20°C, 4°C i 30°C. Probki badano przy użyciu jednej porcji w dniach 0, 20, 36, 73 i 114. Wszystkie warunki badania były dodatnie zarówno dla CT, jak i GC we wszystkich czasach i temperaturach.

D. Probki moczu

Dane potwierdzające zalecane warunki transportu i przechowywania próbek moczu zostały wygenerowane na podstawie dziesięciu ujemnych próbek moczu kobiet i dziesięciu ujemnych próbek moczu mężczyzn. Do próbek moczu dodano CT i GC w końcowych stężeniach, odpowiednio, 10 IFU i 100 CFU na reakcję. Dwa zestawy próbek moczu z domieszką przechowywano w temperaturach 4°C i 30°C przez 24 godziny przed przeniesieniem ich na podłoże transportowe do próbek moczu (UTM). Dwa zestawy próbek UTM były następnie przechowywane w temperaturze 4°C i 30°C i zostały zbadane w trzech egzemplarzach w dniach 0, 1, 5, 20 i 35. Wszystkie próbki były dodatnie zarówno w kierunku CT, jak i GC, gdy próbki moczu były przechowywane w temperaturze 4°C przed dodaniem UTM. Kiedy próbki moczu były przechowywane w temperaturze 30°C przed dodaniem UTM, wszystkie próbki były dodatnie w kierunku CT i 95% próbek było dodatnich w kierunku GC w 35 dniu. Te same próbki zostały zbadane po 116 dniach przechowywania w temperaturze -20°C i -70°C. Wszystkie próbki były dodatnie w kierunku CT i GC w obu warunkach przechowywania.

E. 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, przy czym do 30 próbek dodano CT i GC w stężeniach odpowiednio 1,0 IFU i 50 CFU na reakcję; do 30 próbek dodano odpowiednio 0,1 IFU i 5 CFU na reakcję; a 30 próbek nie zawierało dodatku. Probki przechowywano w temperaturze -20°C i badano w dniach 0, 200 i 400 dni. 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 Test Aptima Combo 2 generowanymi na w pełni automatycznym systemie Tigris DTS i półautomatycznych systemach DTS została oceniona poprzez zbadanie próbek 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 była badana indywidualnie za pomocą Test Aptima Combo 2 zarówno w systemie Tigris DTS jak i DTS firmy Hologic.

Badanie zgodności próbek klinicznych – Próbki wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej oraz moczu kobiet i mężczyzn

Do badania włączono mężczyzn i kobiety uczęszczających do poradni chorób wenerycznych, ośrodków pomocy doraźnej, publicznych placówek służby zdrowia i poradni planowania rodziny w siedmiu zróżnicowanych geograficznie ośrodkach klinicznych o niskiej lub wysokiej częstości występowania CT i GC. W badaniu zgodności próbek klinicznych oceniano zgodność pomiędzy dwoma systemami na podstawie próbek wymazu i moczu pobranych od 485 mężczyzn i 576 kobiet. Spośród 1 991 przebadanych próbek, niewielki odsetek stanowiły próbki, których wyniki były początkowo nieważne lub niejednoznaczne dla CT lub GC w systemie Tigris DTS (20, 1,0%) i w systemie Systemy DTS (14, 0,7%). Po powtórny badaniu, w dwóch (2) próbkach klinicznych uzyskano niejednoznaczne wyniki w kierunku GC w systemie Tigris DTS, które nie zostały uwzględnione w obliczeniach równoważności. Obliczono ogólną zgodność procentową oraz zgodność procentową wyników dodatnich i ujemnych. Próbki dające rozbieżne wyniki między systemami DTS i Tigris DTS zostały zbadane w alternatywnych testach amplifikacji TMA w kierunku CT i GC, które są testami amplifikacji kwasu nukleinowego (NAAT), ukierunkowanymi na sekwencje rRNA CT lub GC, różniące się od tych, które są ukierunkowane w Test Aptima Combo 2. Powtórne wykonanie testu Test Aptima Combo 2 w systemie Systemy DTS zostało przeprowadzone również na próbkach dających rozbieżne wyniki w systemach Tigris DTS i DTS.

Tabele 17 i 18 przedstawiają ogólną zgodność procentową dla wszystkich sparowanych wyników testów uzyskanych w systemie Tigris DTS i DTS, odpowiednio dla próbek wymazu i moczu. Ogólna zgodność wyniosła 98,3% dla próbek wymazu i 99,2% dla próbek moczu. Wartości szacunkowe skuteczności testu Aptima Combo 2 dla wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej oraz próbek moczu kobiet i mężczyzn badanych w systemach DTS znajdują się w Tabeli 5a i 9a. Szacunkowa skuteczność kliniczna systemu Tigris DTS w przypadku wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej oraz próbek moczu kobiet i mężczyzn powinna być podobna, biorąc pod uwagę zgodność wyników.

Badanie zgodności próbek klinicznych – Próbki wymazu z pochwy i płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt

Kobiety korzystające z usług poradni chorób wenerycznych, publicznych placówek służby zdrowia oraz OB/GYN dostarczyły próbki wymazu z pochwy i płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt. Próbki wymazów z pochwy zostały przesłane bezpośrednio do firmy Hologic w celu przeprowadzenia badań, natomiast płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt zostały przetworzone w 2 laboratoriach cytopatologicznych przed ich przesłaniem. W firmie Hologic najpierw przeprowadzono badania przesiewowe wymazów z pochwy i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt przy użyciu testu Aptima Combo 2 w systemach DTS. Próbki z końcowymi nieważnymi lub niejednoznacznymi wynikami w systemach DTS nie zostały

włączone do dalszych badań w systemie Tigris DTS. Do badań porównawczych w systemie Tigris DTS wybrano próbki dodatnie w teście Aptima Combo 2 oraz podgrupę próbek ujemnych w teście Aptima Combo 2. W obu systemach przetestowano sto siedemdziesiąt (170) próbek wymazu z pochwy i 170 płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt pobranych od 181 kobiet. Większość próbek (110 wymazów z pochwy i 107 płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt) wybranych do badań porównawczych pochodziła od kobiet z objawami. Uruchomiono siedemnaście (17) list roboczych: 13 (76,5%) było ważnych, a 4 (23,5%) zostały unieważnione, ponieważ urządzenie wykryło wysokie tło na luminometrze. Urządzenie miało poluzowane złącza Detect 1 i 2, co mogło spowodować przedostanie się powietrza do przewodów lub wstrzyknięcie nieprawidłowej ilości odczynników detekcyjnych. Te listy robocze były ważne w ponownym badaniu. Spośród 340 przebadanych próbek, żadna nie dała początkowo nieważnego lub niejednoznacznego wyniku w systemie Tigris DTS.

Tabele 19 i 20 przedstawiają ogólną zgodność procentową dla detekcji CT i GC dla wszystkich sparowanych wyników testów uzyskanych w systemach Tigris DTS i DTS, odpowiednio dla wymazu z pochwy i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. Ogólna zgodność wyniosła 98,2% dla próbek wymazu z pochwy i 98,2% dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt. Wartości szacunkowe skuteczności testu Aptima Combo 2 dla wymazów z pochwy i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt testowanych na systemach DTS znajdują się w Tabeli 5b,5c, 9b oraz 9c. Szacunkowa skuteczność kliniczna systemu Tigris DTS w przypadku próbek wymazu z pochwy i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt powinna być podobna, biorąc pod uwagę zgodność wyników.

Badanie zgodności paneli klinicznych CT/GC – Próbki wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej oraz moczu kobiet i mężczyzn

W badaniu zgodności paneli klinicznych CT/GC oceniano równoważność między dwoma systemami, wykorzystując 13 paneli klinicznych CT/GC przygotowanych przez firmę Hologic, zawierających od 0 do 2 500 jednostek tworzących inkluzję (IFU)/mL CT i/lub od 0 do 125 000 jednostek tworzących kolonie (CFU)/mL GC. Panele kliniczne CT/GC zostały utworzone z próbek wymazów i moczu pobranych od 222 mężczyzn i 117 kobiet, którzy zostali uznani za niezakażonych na podstawie ujemnych wyników badań wymazów i próbek moczu przy użyciu Test Aptima Combo 2 w Systemie DTS. Każdy z 13 paneli CT/GC składał się z 5 replikatów każdego typu próbki (wymaz z kanału szyjki macicy, wymaz z męskiej cewki moczowej, mocz kobiety, mocz mężczyzny), w sumie 20 replikatów na panel.

Tabela 21 pokazuje procentową zgodność z oczekiwanymi wynikami CT i GC dla systemu Tigris DTS oraz dla systemów DTS dla każdego z 13 paneli CT/GC. Stężenia wahały się od 10-krotnie poniżej do 1000-krotnie powyżej wartości granicznych stwierdzonych w teście Aptima Combo 2, wynoszących 1 IFU/test dla CT i 50 CFU/test dla GC. Tabela 21 przedstawia również ogólną zgodność procentową (99,3%) pomiędzy wynikami panelu CT/GC z systemu Tigris DTS i z systemu DTS. Zgodność wyników dodatnich i ujemnych przedstawiono w Tabeli 22 i 23, odpowiednio dla wyników panelu CT i GC. W przypadku paneli wymazu i moczu zgodność wyników dodatnich wyniosła odpowiednio 100% i 96,2% dla CT oraz 100% dla GC. Zgodność wyników ujemnych dla wymazu i moczu wyniosła odpowiednio 100% i 98,0% dla CT oraz 100% dla GC. Trzy z 5 replikatów panelu moczu kobiet, które były o jeden log poniżej wymaganej czułości analitycznej testu Aptima Combo 2 wynoszącej 1 IFU/test dla CT, były CT- w systemie Tigris. Jeden z 5 replikatów panelu moczu kobiet z oddzielnego panelu był CT- w systemach DTS.

Tabela 17: Badanie zgodności próbek klinicznych: Wyniki próbek wymazu z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej¹

System Tigris DTS	Systemy DTS				Ogółem
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	30	0	0	0	30
CT+/GC-	0	108	0	2 ⁵	110
CT-/GC+	1 ²	0	67	0	68
CT-/GC-	0	12 ³	2 ⁴	796	810
Ogółem	31	120	69	798	1018
Zgodność procentowa (95% C.I.)	96,8% (83,3-99,9)	90,0% (83,2-94,7)	97,1% (89,9-99,6)	99,7% (99,1-100)	N/D
Ogólna zgodność procentowa (95% C.I.): 98,3% (97,3-99,0)					

+ oznacza wynik Dodatni, - oznacza wynik Ujemny, N/D = Nie dotyczy.

¹Dane nie pokazane: Dwie próbki dały wyniki CT-/GC niejednoznaczne zarówno w przypadku systemu Tigris, jak i Systemy DTS. Jednak próbka dała wynik CT-/GC- w systemie Tigris DTS, ale CT-/GC niejednoznaczny w systemie Systemy DTS. Po ponownym badaniu przy użyciu Test Aptima Combo 2 w Systemy DTS, próbka ta dała wynik CT-/GC-. Próbka dała również wynik GC- w alternatywnym teście amplifikacji TMA.

²1/1 dała wynik CT+/GC+ po ponownym badaniu w Systemy DTS i dała wynik CT+ w alternatywnym teście amplifikacji TMA.

³11/12 zostało poddanych ponownemu badaniu. 11/11 dało wynik CT-/GC- po ponownym badaniu przy użyciu Test Aptima Combo 2 w Systemy DTS. 9/11 dało wynik CT- po zbadaniu w alternatywnym teście amplifikacji TMA oraz 2/11 dało wynik CT+.

⁴2/2 dały wynik CT-/GC- po ponownym badaniu przy użyciu Test Aptima Combo 2 w Systemy DTS oraz dały wynik GC- w alternatywnym teście amplifikacji TMA.

⁵2/2 dały wynik CT-/GC- po ponownym badaniu przy użyciu Test Aptima Combo 2 w Systemy DTS oraz dały wynik CT- w alternatywnym teście amplifikacji TMA.

Tabela 18: Badanie zgodności próbek klinicznych: Wyniki dla próbek moczu kobiet i mężczyzn

System Tigris DTS	Systemy DTS				Ogółem
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	32	0	0	0	32
CT+/GC-	0	100	0	1 ³	101
CT-/GC+	0	0	52	0	52
CT-/GC-	0	8 ¹	1 ²	776	785
Ogółem	32	108	53	777	970
Zgodność procentowa (95% C.I.)	100% (89,1-100)	92,6% (85,9-96,7)	98,1% (89,9-100)	99,9% (99,3-100)	N/D
Ogólna zgodność procentowa (95% C.I.): 99,2% (98,1-99,5)					

+ oznacza wynik Dodatni, - oznacza wynik Ujemny, N/D = Nie dotyczy.

¹ 7/8 dało wynik CT-/GC- po ponownym badaniu przy użyciu Test Aptima Combo 2 w Systemy DTS oraz dało wynik CT- w alternatywnym teście amplifikacji TMA.

1/8 dała wynik CT+/GC- po ponownym badaniu przy użyciu Test Aptima Combo 2 w Systemy DTS i dała wynik CT+ w alternatywnym teście amplifikacji TMA.

²1/1 dała wynik CT-/GC- po ponownym badaniu przy użyciu Test Aptima Combo 2 w Systemy DTS oraz dała wynik GC- w alternatywnym teście amplifikacji TMA.

³ 1/1 dała wynik CT-/GC- po ponownym badaniu przy użyciu Test Aptima Combo 2 w Systemy DTS oraz dała wynik CT+ w alternatywnym teście amplifikacji TMA.

Tabela 19: Badanie zgodności próbek klinicznych: Wyniki dla próbki wymazu z pochwy

System Tigris DTS	Systemy DTS				Ogółem
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	26	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	2	46
CT-/GC+	0	0	24	0	24
CT-/GC-	0	0	1	73	74
Ogółem	26	44	25	75	170
Zgodność procentowa (95% C.I.)	100% (86,8-100)	100% (92,0-100)	96,0% (79,6-99,9)	97,3% (90,7-99,7)	N/D
Ogólna zgodność procentowa (95% CI): 98,2% (94,9-99,6)					

+ oznacza wynik Dodatni, - oznacza wynik Ujemny, N/D = Nie dotyczy.

Tabela 20: Badanie zgodności próbek klinicznych: Wyniki dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

System Tigris DTS	Systemy DTS				Ogółem
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	26	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	1	45
CT-/GC+	0	0	24	0	24
CT-/GC-	0	1	1	73	75
Ogółem	26	45	25	74	170
Zgodność procentowa (95% C.I.)	100% (86,8-100)	97,8% (88,2-99,9)	96,0% (79,6-99,9)	98,6% (92,7-100)	N/D
Ogólna zgodność procentowa (95% CI): 98,2% (94,9-99,6)					

+ oznacza wynik Dodatni, - oznacza wynik Ujemny, N/D = Nie dotyczy.

Tabela 21: Badanie zgodności paneli klinicznych CT/GC: Zgodność z oczekiwanymi wynikami w kierunku CT i GC dla paneli wymazów z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej oraz moczu kobiet i mężczyzn

Element panelu CT/GC	Stężenie elementu panelu ¹		Replikaty	CT		GC	
	CT	GC		Tigris	DTS	Tigris	DTS
	IFU/mL	CFU/mL		% zgodność	% zgodność	% zgodność	% zgodność
Niskie/Niskie	2,5	125	20	100	100	100	100
Niskie/Wysokie	2,5	125 000	20	100	95 ³	100	100
Wysokie/Niskie	2 500	125	20	100	100	100	100
Wysokie/Wysokie	2 500	125 000	20	100	100	100	100
Bardzo niskie/Ujemne	0,25 ²	0	20	85 ⁴	100	100	100
Niskie/Ujemne	2,5	0	20	100	100	100	100
Średnie/Ujemne	25	0	20	100	100	100	100
Wysokie/Ujemne	2 500	0	20	100	100	100	100
Ujemne/Bardzo niskie	0	12,5	20	100	100	100	100
Ujemne/Niskie	0	125	20	100	100	100	100
Ujemne/Średnie	0	1 250	19	100	100	100	100
Ujemne/Wysokie	0	125 000	20	100	100	100	100
Ujemne/Ujemne	0	0	20	100	100	100	100
Ogólna zgodność procentowa między Tigris a DTS (95% C.I.): 99,3% (98,3-99,8)							

IFU = Jednostki tworzące inkluzje, CFU = Jednostki tworzące kolonie, Tigris % zgodność = Zgodność wyników z systemu Tigris z oczekiwanymi wynikami, DTS % zgodność = Zgodność wyników z systemu DTS z oczekiwanymi wynikami.

¹Probówka zawiera około 2,9 mL podłoża transportowego dla próbek wymazu i 4,0 mL podłoża transportowego / mieszanki moczu dla próbek moczu.

²Stężenie CT w tym elemencie panelu klinicznego CT/GC jest o jeden log poniżej wymaganej czułości analitycznej testu Aptima Combo 2, wynoszącej 1 IFU/test (7,25 IFU/wymaz, 5 IFU/mL moczu).

³Jeden z 5 replikatów panelu moczu kobiet dał wynik CT- w systemie DTS.

⁴Trzy z 5 replikatów panelu moczu kobiet dały wynik CT- w systemie Tigris.

Tabela 22: Badanie zgodności paneli klinicznych CT/GC: Wyniki w kierunku CT dla paneli próbek wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej oraz moczu kobiet i mężczyzn

Próbka	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Zgodność wyników dodatnich (95% C.I.)	Zgodność wyników ujemnych (95% C.I.)
Wymaz	129	80	0	0	49	100 (95,5-100)	100 (92,7-100)
Mocz	130	76	3 ¹	1 ²	50	96,2 (89,3-99,2)	98,0 (89,6-100)

+ oznacza wynik Dodatni, - oznacza wynik Ujemny, C.I. = Przedział ufności.

¹Trzy z 5 replikatów panelu moczu kobiet, które były o jeden log poniżej wymaganej czułości analitycznej testu Test Aptima Combo 2 wynoszącej 1 IFU/test dla CT, dały wynik CT- w systemie Tigris.

²Jeden z 5 replikatów panelu moczu kobiet dał wynik CT- w systemie DTS.

Tabela 23: Badanie zgodności paneli klinicznych CT/GC: Wyniki w kierunku GC dla paneli próbek wymazu z kanału szyjki macicy, wymazu z męskiej cewki moczowej oraz moczu kobiet i mężczyzn

Próbka	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Zgodność wyników dodatnich (95% C.I.)	Zgodność wyników ujemnych (95% C.I.)
Wymaz	129	79	0	0	50	100 (95,4-100)	100 (92,9-100)
Mocz	130	80	0	0	50	100 (95,5-100)	100 (92,9-100)

+ oznacza wynik Dodatni, - oznacza wynik Ujemny, C.I. = Przedział ufności, Tigris = Tigris DTS.

Badanie precyzji

Precyzja systemu Tigris DTS (tj. odtwarzalność) została oceniona w jednym zewnętrznym ośrodku klinicznym oraz w firmie Hologic. Precyzję testów Aptima Combo 2 oceniano w trzech systemach Tigris DTS, dwóch ośrodkach badawczych, dwóch seriach zestawów testów Aptima Combo 2 i u czterech operatorów. Tabela 24 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.

W ośrodku zewnętrznym dwóch operatorów wykonało trzy listy robocze (tj. serie) dla każdej partii zestawu testów Aptima Combo 2 na jednym systemie Tigris DTS, wykonując w sumie po 6 list roboczych. W firmie Hologic dwóch operatorów wykonało po trzy listy robocze na partię zestawu Test Aptima Combo 2 każdym z dwóch systemów Tigris DTS, wykonując łącznie po 12 list roboczych. W sumie sporządzono 36 list roboczych. Każda lista robocza składała się z sześciu identycznych, 12-elementowych paneli precyzji zawierających od 0 do 2 000 fg/test rRNA CT i/lub od 0 do 2 433 fg/test rRNA GC. Każda lista robocza składała się z sześciu identycznych, 12-elementowych paneli precyzji zawierających od 0 do 2 000 fg/test rRNA CT i/lub od 0 do 5 000 fg/test rRNA GC. Elementy panelu zawierające CT i GC zostały sklasyfikowane jako mające niskie (5 lub 100 fg/test), średnie (1 000 fg/test) lub wysokie ($\geq 2 000$ fg/test) stężenie CT oraz jako mające niskie (≤ 250 fg/test), średnie (ok. 2 400 fg/test) lub wysokie (5 000 fg/test) stężenie GC. Odtwarzalność została ustalona poprzez dodanie rRNA do podłoża do transportu wymazów. Odtwarzalność podczas badania próbek wymazu i moczu zawierających mikroorganizm szukany nie została określona. Precyzję oceniono zgodnie z wytycznymi NCCLS EP5-A. (35).

Tabela 24: Dane dotyczące precyzji systemu Tigris DTS

Stęż.		Średnia			Wewnątrz serii		Pomiędzy ośrodkami		Pomiędzy partiami		Pomiędzy operatorami		Pomiędzy seriami	
CT	GC	N	RLU (x1000)	% Zgodn.	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)
Ujem.	Ujem.	647	4	100	1,25	26,2	0,66	13,9	0,05	1,0	0,08	1,7	0,30	6,4
Ujem.	Wysokie	215	1 216	100	28,5	2,3	61,2	5,0	10,0	0,8	0	0	17,1	1,4
Wysokie	Ujem.	216	1 266	100	38,8	3,0	0	0	93,1	7,3	40,8	3,2	40,4	3,1
Wysokie	Wysokie	210	2 445	100	54,2	2,2	40,0	1,6	110,3	4,5	28,4	1,1	52,3	2,1
Ujem.	Niskie ¹	217	1 132	100	30,3	2,6	61,0	5,3	0	0,0	20,7	1,8	18,5	1,6
Niskie ¹	Ujem.	214	1 053	100	72,8	6,9	1,5	0,1	73,8	7,0	28,5	2,7	26,9	2,5
Środkowy	Środkowy	214	2 429	100	48,8	2,0	40,0	1,6	101,1	4,1	0	0	52,9	2,1
Niskie ¹	Niskie ¹	216	2 112	99,5	112,3	5,3	84,1	3,9	33,2	1,5	34,2	1,6	52,9	2,5
Niskie ¹	Wysokie	216	2 282	100	77,3	3,3	97,8	4,2	59,3	2,6	0	0	41,7	1,8
Wysokie	Niskie ¹	215	2 318	100	61,1	2,6	50,7	2,1	86,2	3,7	4,6	0,2	42,4	1,8

SD = Odchylenie standardowe, %CV = procentowy współczynnik zmienności, % zgodn. = Zgodność procentowa, Stęż. = Stężenie. 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 odchylenia standardowego i %CV jest ustawiona na 0. Patrz: Zatwierdzone przez NCCLS wytyczne EP5-A (35).

¹Do elementów panelu o niskim stężeniu dodano domieszki do deklarowanej czułości analitycznej testu (5 fg rRNA CT/test, 250 fg rRNA GC/test lub obie wartości dla podwójnego dodatniego elementu panelu). W przypadku CT, badany poziom docelowy jest odpowiednikiem około 36 fg/wymaz i 25 fg/mL moczu. W GC, badany poziom docelowy jest odpowiednikiem około 1 800 fg/wymaz i 1 250 fg/mL moczu. W oparciu o wielkość genomu i szacowany stosunek DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu, 5 fg jest odpowiednikiem 1 IFU CT, a 250 fg jest odpowiednikiem 50 komórek GC.

Skuteczność analityczna systemu Tigris DTS

Specyficzna dla Panther System skuteczność analityczna opisana jest w sekcji *Skuteczność analityczna Panther System*.

Badanie równoważności czułości analitycznej

Rozcieńczenia trzech serotypów CT (E, F, G) związanych z chorobami układu moczowo-płciowego badano na trzech aparatach systemu DTS Tigris oraz równolegle na systemach DTS. Serotypy CT zostały rozcieńczone w podłożu do transportu wymazów i w zbiorniku z przetworzonym moczem. Stężenia wahały się od 3 jednostek tworzących inkluzje (IFU) na test do 0,1 IFU na test, co jest o jeden log poniżej wymaganej czułości analitycznej dla testu, wynoszącej jeden IFU na test (7,25 IFU/wymaz, 5 IFU/mL moczu). Procent wyników dodatnich między DTS Tigris i Systemy DTS był równoważny 95-procentowemu poziomowi ufności dla wszystkich trzech serotypów, aż do poziomu twierdzenia analitycznego. Rozcieńczenia poniżej tego poziomu również dały wynik dodatni na obu platformach. Ogólnie rzecz biorąc, wykazano porównywalną czułość na poziomie wykrywania jednej IFU na test pomiędzy systemami Tigris DTS i DTS.

Został przygotowany jeden panel czułości w puli próbek z pochwy i jeden panel czułości w puli płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt po przetworzeniu o stężeniu CT wynoszącym 5 fg rRNA i przetestowany w 60 replikatach na systemie Tigris DTS. Procent wyników dodatnich (95% C.I.) w systemie Tigris DTS dla próbki wymazu z pochwy wyniósł 100% (95,1-100), a dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt po przetworzeniu wyniósł 100% (95,1-100).

Czułość analityczna dla fińskiego wariantu *Chlamydia trachomatis* (FI-nvCT) została określona poprzez badanie rozcieńczeń transkryptu *in vitro* w ujemnych próbkach moczu, ujemnych próbkach ThinPrep oraz symulowanych próbkach z matrycy wymazów. W systemie Tigris DTS przetestowano 30 replikatów każdego rozcieńczenia z każdą z trzech serii odczynników uaktualnionej wersji testu Aptima Combo 2, co daje w sumie 90 replikatów dla każdego typu próbki. Czułość analityczna została określona na mniej niż jeden IFU na test w próbkach moczu, ThinPrep i symulowanej matrycy wymazów. Zdolność wykrywania uaktualnionej wersji testu Aptima Combo 2 została potwierdzona dla wielu wariantów CT.

Rozcieńczenia klinicznych izolatów GC zbadano na trzech aparatach systemu DTS Tigris oraz równolegle na systemach DTS. Izolaty GC zostały rozcieńczone w podłożu do transportu wymazów i w zbiorniku z przetworzonym moczem. Stężenia wahały się od 150 komórek na test do 5 komórek na test, co jest o jeden log poniżej wymaganej czułości analitycznej dla testu, wynoszącej 50 komórek/test (362 komórki/wymaz, 250 komórek/mL moczu). Procent wyników dodatnich między systemem DTS Tigris i systemem DTS był równoważny 95-procentowemu poziomowi ufności dla wszystkich trzech izolatów aż do poziomu twierdzenia analitycznego. Rozcieńczenia poniżej tego poziomu również dały wynik dodatni na obu platformach. Ogólnie rzecz biorąc, wykazano porównywalną czułość na poziomie wykrywania 50 komórek na test pomiędzy systemami Tigris DTS i DTS.

Został przygotowany jeden panel czułości w puli próbek z pochwy i jeden panel czułości w puli płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt po przetworzeniu o stężeniu GC wynoszącym 250 fg rRNA i przetestowany w 60 replikatach na systemie Tigris DTS. Procent wyników dodatnich (95% C.I.) w systemie Tigris DTS dla próbki wymazu z pochwy wyniósł 100% (95,1-100), a dla płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt po przetworzeniu wyniósł 100% (95,1-100).

Badanie klinicznego panelu z domieszką rRNA CT/GC – Próbkę wymazu z pochwy i płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt

Badanie klinicznego panelu z domieszką rRNA CT/GC oceniło zgodność pomiędzy dwoma systemami z wykorzystaniem przygotowanych przez firmę Hologic paneli klinicznych CT/GC z domieszką od 0 do 5 000 fg rRNA/test dla CT i/lub 0 do 250 000 fg rRNA/test dla GC. Panele kliniczne CT/GC zostały stworzone na podstawie wymazów z pochwy i płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt pobranych od 309 kobiet, których próbki uzyskały ujemne wyniki Test Aptima Combo 2 w systemach DTS podczas testów w firmie Hologic. Próbkę ujemne zostały zebrane według typu próbki, z domieszką lub bez domieszki rRNA CT i/lub GC i podzielone na porcje dla każdego elementu panelu. Replikaty każdego z 13 elementów panelu z różnymi poziomami rRNA zostały połączone w celu stworzenia jednego panelu klinicznego dla każdego typu próbki. Każdy panel zawierał łącznie 132 replikaty.

Jeden replikat wymazu z pochwy z elementu panelu o bardzo niskim stężeniu CT (0,05 fg rRNA/test) miał niejednoznaczny wynik CT w systemach DTS.

Tabela 25 przedstawia zgodność procentową dla każdego poziomu rRNA w wymazie z pochwy i panelach płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt, odpowiednio, z oczekiwanymi wynikami CT i GC dla systemu Tigris DTS i dla systemów DTS. Stężenia wahały się od 1 log poniżej do 3 log powyżej wartości 5 fg rRNA/test dla CT i 250 fg rRNA/test dla GC. W Tabeli 25 przedstawiono również ogólny procent zgodności (99,2% dla panelu wymazu z pochwy i 100% dla panelu płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt).

Tabela 25: Badanie zgodności paneli klinicznych z domieszką rRNA CT/GC: Zgodność z oczekiwanymi wynikami CT i GC dla panelu wymazów z pochwy i panelu płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt

Element panelu CT/GC	Stężenie (fg rRNA/test)		Replikaty	Panel wymazów z pochwy				Panel płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt			
				CT		GC		CT		GC	
	CT	GC		Tigris % zgodność	DTS % zgodność	Tigris % zgodność	DTS % zgodność	Tigris % zgodność	DTS % zgodność	Tigris % zgodność	DTS % zgodność
Niskie/Niskie	5	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Niskie/Wysokie	5	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Wysokie/Niskie	5000	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Wysokie/Wysokie	5000	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Bardzo niskie/ Ujemne	0,5	0	10	100	88,9 ¹	100	100	100	100	100	100
Niskie/Ujemne	5	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Średnie/Ujemne	50	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Wysokie/Ujemne	5000	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Ujemne/ Bardzo niskie	0	25	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Ujemne/Niskie	0	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Ujemne/Średnie	0	2500	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Ujemne/Wysokie	0	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Ujemne/Ujemne	0	0	12	100	100	100	100	100	100	100	100
				Ogólna zgodność procentowa między Tigris a DTS (95% CI): 99,2% (95,8-100)				Ogólna zgodność procentowa między Tigris a DTS (95% CI): 100% (97,2-100)			

DTS % zgodność = Zgodność pomiędzy systemem DTS i oczekiwanymi wynikami, Tigris % zgodność = Zgodność pomiędzy systemem Tigris DTS i oczekiwanymi wynikami.

¹ 1/10 replikatów miało niejednoznaczne wyniki CT w systemach DTS i zostało wyłączonych z tej analizy. 8/9 zgadzało się z oczekiwanymi wynikami. 1/9 dało wynik CT- w systemie DTS. Stężenie CT dla tego elementu panelu wynosi 1 log poniżej 5 fg rRNA/testu.

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 Test Aptima Combo 2 są identyczne pomiędzy systemem Tigris DTS i systemami DTS, badania swoistości analitycznej w systemie Tigris DTS zostały zaprojektowane tak, aby skupić się na najbardziej wymagających 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 15 wybrano 24 (dwadzieścia cztery) izolaty hodowlane, w tym 3 mikroorganizmy najbardziej zbliżone do CT i 17 mikroorganizmów najbardziej zbliżonych do GC. Wszystkie badane mikroorganizmy dały ujemne wyniki w systemie Tigris DTS.

Badanie równoważności substancji zakłócających

Krew, powszechnie występująca w próbkach z układu moczowo-płciowego, może zakłócać niektóre testy amplifikacji. Krew pełna została użyta do ustalenia stopnia zakłócenia przez krew w systemie Tigris DTS i równoważności pomiędzy systemem Tigris DTS i systemami DTS w odniesieniu do tego potencjalnego czynnika zakłócającego. Świeżą krew dodano do wymazu klinicznego, wymazu z pochwy, płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt po przetworzeniu i moczu, a następnie przetestowano pod kątem potencjalnego zakłócenia testu przy braku i w obecności CT i GC. Zastosowano szacunkowy równoważnik rRNA dla jednego IFU CT/test (5 fg/test) i 50 komórek CG/test (250 fg/test), ponieważ przedstawiają one czułość analityczną testu. 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% (obj./obj.) krwi w próbkach wymazu, próbkach wymazu z pochwy, płynnych próbkach Pap w roztworze PreservCyt po przetworzeniu i 30% (obj./obj.) krwi w próbkach moczu. Wszystkie próbki, które nie zawierały cząsteczek szukanych, zostały prawidłowo zidentyfikowane jako ujemne zarówno w kierunku CT, jak i GC. Wyniki te są identyczne z tymi, które wykazano dla systemów DTS po dodaniu takich samych ilości krwi.

Krew dodana do wymazu, wymazu z pochwy, płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt po przetworzeniu i próbek moczu w ilościach znacznie wyższych niż można by się spodziewać przy normalnym pobieraniu próbek, nie zakłóciła wyników w systemie Tigris DTS.

Badanie przenoszenia dla systemu Tigris DTS

Aby ustalić, że Tigris DTS minimalizuje ryzyko fałszywie dodatnich wyników wynikających z zanieczyszczenia przez przeniesienie, przeprowadzono wielodniowe badanie analityczne z wykorzystaniem paneli z domieszkami na systemach Tigris DTS. W badaniu wykorzystano 20% próbek o wysokiej zawartości cząsteczek szukanych GC zawierających $1,0 \times 10^9$ komórek/reakcję, które zostały losowo rozmieszczone wśród 80% próbek ujemnych zawierających podłoże do transportu wymazów. W trakcie badania w trzech systemach Tigris DTS przebadano 1 372 próbki o wysokim stężeniu cząsteczek szukanych i 5 516 próbek ujemnych. Ogólny wskaźnik przenoszenia, obejmujący zarówno wyniki fałszywie dodatnie, jak i niejednoznaczne, wynosił średnio 0,3% (18/5 491). Łącznie 25 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 następowały po dodatnim wyniku dla próbki o wysokiej zawartości cząsteczek szukanych. Wskaźnik przenoszenia dla tej podgrupy populacji, obejmujący zarówno wyniki fałszywie dodatnie, jak i niejednoznaczne, wynosił średnio 1,1% (12/1 097). W przypadku wyników fałszywie dodatnich w tym podzbiórce, wskaźnik przenoszenia wyniósł od 0% do 1,1% we wszystkich trzech systemach Tigris DTS. W przypadku wyników niejednoznacznych w tym podzbiórce, wskaźnik przenoszenia wyniósł od 0% do 0,9% we wszystkich trzech systemach Tigris DTS. Wyniki te pokazują, że zanieczyszczenie przez przenoszenie jest w systemie Tigris DTS zminimalizowane.

Skuteczność analityczna Panther System**Badanie zgodności panelu klinicznego z domieszką**

Pojedyncze ujemne próbki moczu zostały wzbogacone o CT serotyp G, GC lub kombinację CT i GC w celu stworzenia panelu składającego się ze 120 próbek CT-dodatnich, 120 GC-dodatnich i 120 podwójnie dodatnich elementów panelu. Do CT-dodatnich elementów panelu dodano mikroorganizmy w stężeniu 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL lub 25 IFU/mL (0,5 fg/test, 5 fg/test lub 50 fg/test). Do GC-dodatnich elementów panelu dodano mikroorganizmy w stężeniu 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL lub 1 250 CFU/mL (25 fg/test, 250 fg/test lub 2 500 fg/test). Do podwójnych dodatnich elementów panelu dodano mikroorganizmy CT w stężeniu 2,5 IFU/mL (5 fg/test) i GC w stężeniu 2 500 000 CFU/mL (5 000 000 fg/test) lub CT w stężeniu 25 IFU/mL (50 fg/test) oraz GC w stężeniu 1 250 CFU/mL (2 500 fg/test) lub CT w stężeniu 25 000 IFU/mL (50 000 fg/test) i GC w stężeniu 125 CFU/mL (250 fg/test) lub CT w stężeniu 2,5 IFU/mL (5 fg/test) i GC w stężeniu 125 CFU/mL (250 fg/test). Dodatkowo pobrano 120 próbek moczu ujemnych w kierunku CT i GC. Panele dodatnie i ujemne zostały przebadane na trzech aparatach Panther System i trzech systemach Tigris DTS. Procentowa zgodność wyników dodatnich między aparatem Panther System a systemem Tigris DTS wynosiła 100% przy niższym 95-procentowym przedziale ufności o wartości 99,5 dla CT i GC. Procentowa zgodność wyników ujemnych pomiędzy aparatem Panther System a systemami Tigris DTS wynosiła 99,9% przy niższym 95-procentowym przedziale ufności 99,5. Wyniki badania przedstawiono w Tabeli 26.

Tabela 26: Badanie zgodności panelu klinicznego z domieszką: Zgodność z oczekiwanymi wynikami w kierunku CT i GC

Element panelu	Stężenie (IFU lub CFU/mL)		Stężenie (fg/test)		Replikaty	CT		GC	
	CT	GC	CT	GC		Tigris % zgodność	Panther % zgodność	Tigris % zgodność	Panther % zgodność
Panele CT/GC^{1,2}									
Niskie/Niskie	2,5	125	5	250	90	100	100	100	100
Średnie/Średnie	25	1 250	50	2 500	90	100	100	100	100
Niskie/Wysokie	2,5	2 500 000	5	5 000 000	90	100	100	100	100
Wysokie/Niskie	25 000	125	50 000	250	90	100	100	100	100
Panele GC^{2,3}									
Ujemne/Bardzo niskie	0	12,5	0	25	117*	100	100	100	100
Ujemne/Niskie	0	125	0	250	120	100	100	100	100
Ujemne/Średnie	0	1 250	0	2 500	120	100	99,2	100	100
Panele CT^{1,3}									
Bardzo niskie/Ujemne	0,25	0	0,5	0	120	100	100	100	100
Niskie/Ujemne	2,5	0	5	0	120	100	100	100	100
Średnie/Ujemne	25	0	50	0	120	100	100	100	100
Panele ujemne³									
Ujemne/Ujemne	0	0	0	0	360	100	100	99,7	99,7

*Jeden element panelu został wyprodukowany nieprawidłowo i został wyłączony z analizy.

¹Ogólna zgodność procentowa wyników dodatnich w kierunku CT między systemami Tigris i Panther (95% CI): 100% (99,5 – 100).

²Ogólna zgodność procentowa wyników dodatnich w kierunku GC między systemami Tigris i Panther (95% CI): 100% (99,5 – 100).

³Ogólna zgodność procentowa wyników ujemnych między systemami Tigris i Panther (95% CI): 99,9% (99,5 – 100).

W badaniu zgodności panelu klinicznego oceniano równoważność pomiędzy oryginalną i zaktualizowaną wersją testu Aptima Combo 2 przy użyciu 20 przygotowanych paneli klinicznych CT/GC zawierających od 0 do 2 500 IFU/mL dzikiego typu CT, od 0 do 500 IFU/mL FI-nvCT i od 0 do 125 000 CFU/mL GC w próbkach moczu. Każdy z 20 paneli został przebadany trzykrotnie w dwóch seriach dziennie na trzech aparatach Panther System przez dwóch operatorów przy użyciu trzech partii odczynników w ciągu sześciu dni. Tabela 27 przedstawia zgodność procentową z oczekiwanymi wynikami CT i GC dla dwóch wersji testu Aptima Combo 2.

Tabela 27: Badanie zgodności paneli klinicznych CT/GC przy użyciu testu Aptima Combo 2 w wersji oryginalnej i zaktualizowanej

Stężenie elementu panelu			CT				GC			
CT IFU/mL	FI-nvCT IFU/mL*	GC CFU/mL	Oryginalny AC2 Wynik oczekiwany	Oryginalny AC2% Zgodność	Zaktualizowany AC2 Wynik oczekiwany	Zaktualizowany AC2% zgodność	Oryginalny AC2 Wynik oczekiwany	Oryginalny AC2% Zgodność	Zaktualizowany AC2 Wynik oczekiwany	Zaktualizowany AC2% zgodność
0	0	0	Ujem.	100%	Ujem.	100%	Ujem.	100%	Ujem.	100%
0	0	12,5	Ujem.	100%	Ujem.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%
0	0	125	Ujem.	100%	Ujem.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%
0	0	1 250	Ujem.	100%	Ujem.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%
0	0	125 000	Ujem.	100%	Ujem.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%
0,25	0	0	Dod.	100%	Dod.	100%	Ujem.	100%	Ujem.	100%
2,5	0	0	Dod.	100%	Dod.	100%	Ujem.	100%	Ujem.	100%
25	0	0	Dod.	100%	Dod.	100%	Ujem.	100%	Ujem.	100%
2 500	0	0	Dod.	100%	Dod.	100%	Ujem.	100%	Ujem.	100%
0	0,02	0	Ujem.	100%	Dod.	100%	Ujem.	100%	Ujem.	100%
0	0,05	0	Ujem.	100%	Dod.	100%	Ujem.	100%	Ujem.	100%
0	0,2	0	Ujem.	98,2%	Dod.	100%	Ujem.	99,1%	Ujem.	100%
0	500	0	Ujem.	100%	Dod.	100%	Ujem.	100%	Ujem.	100%
2,5	0	125	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%
25	0	1 250	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%
2 500	0	125	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%
2,5	0	125 000	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%
0	500	125	Ujem.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%
0	0,05	125 000	Ujem.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%
2 500	500	125	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%	Dod.	100%

*Równoważniki IFU zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacowanego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu.

Badanie czułości analitycznej

Czułość analityczną testu Aptima Combo 2 zbadano przy użyciu trzech reprezentatywnych matryc próbek. Był to mocz rozcieńczony podłożem transportowym do moczu (UTM), płynne próbki Pap w roztworze PreservCyt rozcieńczone podłożem transportowym do wymazów (STM) oraz STM. rRNA CT i GC wprowadzono do puli tych trzech matryc w następujących stężeniach przy stężeniach równoważnika RNA wynoszących 0,5 fg/test, 5 fg/test i 50 fg/test (równoważniki rRNA o stężeniach 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL lub 25 IFU/mL) dla CT lub 25 fg/test, 250 fg/test lub 2 500 fg/test dla GC (równoważniki rRNA o stężeniach 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL lub 1 250 CFU/mL). Odpowiedniki rRNA zostały obliczone na podstawie wielkości genomu i szacunkowego stosunku DNA:RNA/komórkę każdego mikroorganizmu. Panele te badano na trzech aparatach Panther System, stosując trzy partie odczynników w replikatach po 96. Obliczono zgodność z oczekiwanym wynikiem. Zgodność z oczekiwanymi wynikami wyniosła 100% (95% CI: 96,1-100%) dla wszystkich paneli moczu, 100% (95% CI: 96,0-100%) dla wszystkich paneli płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt oraz 100% (95% CI: 96,1-100%) dla wszystkich paneli STM. Czułość analityczna testu wynosi 2,5 IFU/mL dla CT i 125 CFU/mL dla GC.

Czułość analityczna FI-nvCT została określona poprzez badanie rozcieńczeń transkryptu *in vitro* w ujemnych próbkach moczu, ujemnych próbkach ThinPrep oraz symulowanych próbkach z matrycy wymazów. W Panther System przetestowano 30 replikatów każdego rozcieńczenia z każdą z trzech serii odczynników uaktualnionej wersji testu Aptima Combo 2, co daje w sumie 90 replikatów dla każdego typu próbki. Czułość analityczna została określona na mniej niż jeden IFU na test w próbkach moczu, ThinPrep i symulowanej matrycy wymazów. Zdolność wykrywania uaktualnionej wersji testu Aptima Combo 2 została potwierdzona dla wielu wariantów CT.

Badanie powtarzalności

Precyzję testu Aptima Combo 2 oceniono w trzech aparatach Panther System i trzech seriach zestawów testowych Aptima Combo 2 w okresie 24 dni. Panele zostały utworzone przez dodanie rRNA CT i/lub GC do STM w stężeniach pokazanych w Tabeli 28. 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 (37). Całkowita liczba replikatów dla każdego panelu wyniosła 96. Tabela 28 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, a także zmienność ogólną.

Tabela 28: Precyzja Panther System dla testu Aptima Combo 2

Matryca	CT (IFU/mL)	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	0	96	6	100	0,06	1	0,88	13,5	0	0	1,02	15,7	1,3	20,1
	0,25	0	95	1226	100	70,03	5,7	20,03	1,6	8,43	0,7	47,05	3,8	87,1	7,1
	2,5	0	96	1249	100	77,97	6,2	6,11	0,5	0	0	32,87	2,6	84,8	6,8
	25	0	95	1268	100	72,85	5,7	15,3	1,2	0	0	39,58	3,1	84,3	6,6
	0	12,5	96	1081	100	18,44	1,7	28,59	2,6	0	0	26,68	2,5	43,2	4
	0	125	96	1266	100	29,81	2,4	0	0	8,86	0,7	27,58	2,2	41,6	3,3
	0	1250	96	1309	100	29,41	2,2	0	0	9,83	0,8	31,83	2,4	44,4	3,4
	2,5	125	96	2456	100	86,58	3,5	0	0	0	0	52,99	2,2	101,5	4,1
	2,5	2500	96	2509	100	73,13	2,9	0	0	19,8	0,8	46,77	1,9	89	3,5
	1000	2500	96	2496	100	31,72	1,3	6,14	0,2	0	0	193,66	7,8	196,3	7,9
Mocz	1000	125	96	2471	100	83,63	3,4	9,36	0,4	0	0	52,35	2,1	99,1	4
	0	0	94	6	100	0,2	3,2	0,66	10,8	0,36	5,9	1	16,3	1,3	21,2
	0,25	0	95	863	100	70,73	8,2	165,65	19,2	47,97	5,6	132,27	15,3	228,6	26,5
	2,5	0	95	1129	100	56,02	5	89,56	7,9	8,56	0,8	74,19	6,6	129,4	11,5
	25	0	96	1246	100	60,45	4,9	13,97	1,1	13,36	1,1	43,03	3,5	76,7	6,2
	0	12,5	96	1016	100	18,83	1,9	31,81	3,1	7,88	0,8	49,53	4,9	62,3	6,1
	0	125	96	1209	100	49,32	4,1	23,5	1,9	1,68	0,1	40,28	3,3	67,9	5,6
	0	1250	96	1252	100	53,01	4,2	40,34	3,2	7,72	0,6	40,23	3,2	78,2	6,2
PreservCyt	2,5	125	95	2290	100	73,92	3,2	40,88	1,8	10,43	0,5	56,12	2,5	101,9	4,4
	0	0	96	7	100	0	0	0,8	11,7	0	0	1,54	22,4	1,7	24,7
	0,25	0	96	1113	100	92,29	8,3	30,08	2,7	0	0	63,57	5,7	116	10,4
	2,5	0	96	1194	100	62,54	5,2	24,83	2,1	0	0	47,01	3,9	82,1	6,9
	25	0	95	1222	100	65,14	5,3	26,36	2,2	14,67	1,2	34,97	2,9	79,8	6,5
	0	12,5	93	994	100	33,28	3,3	36,92	3,7	15,97	1,6	26,15	2,6	58,4	5,9
	0	125	95	1189	100	40,1	3,4	4,45	0,4	10,87	0,9	21,44	1,8	47	4
	0	1250	95	1239	100	37,69	3	7,47	0,6	13,61	1,1	18,04	1,5	44,6	3,6
2,5	125	95	2333	100	99,68	4,3	35,27	1,5	12,61	0,5	48,86	2,1	117,2	5	

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce, jeżeli zmienność spowodowana tymi czynnikami jest bardzo mała. W tym przypadku SD=0 i CV=0%.

* Całkowita liczba replikatów dla każdego panelu = 96. W wybranych badaniach, poszczególne nieważne replikaty nie były ponownie badane.

Badanie swoistości analitycznej

Swoistość analityczna uaktualnionej wersji testu Aptima Combo 2 została oceniona przy użyciu podzbioru mikroorganizmów wymienionych w Tabeli 15 i Tabeli 16. Testowane 86 mikroorganizmów składało się głównie ze szczepów wirusów, bakterii i drożdży. Nie stwierdzono, aby którykolwiek z badanych mikroorganizmów miał wpływ na skuteczność lub swoistość analityczną uaktualnionej wersji testu Aptima Combo 2.

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 dodano do pul klinicznych wymazów z pochwy, płynnych próbek Pap w roztworze PreservCyt po przetworzeniu lub próbek moczu, a następnie przetestowano pod kątem potencjalnego zakłócenia testu przy obecności i braku obecności CT i GC. Jako stężenia szukane zastosowano szacunkowe równoważniki rRNA dla jednego IFU CT/test (5 fg/test) i 50 komórek CG/test (250 fg/test), ponieważ przedstawiają one czułość analityczną testu. Próbkami 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 zarówno w kierunku CT, jak i GC. 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. Próbkami o wysokim mianie zostały wykonane przy użyciu rRNA GC wprowadzonego do STM, aby uzyskać końcowe stężenie 5×10^5 fg rRNA/reakcję (odpowiednik rRNA w ilości $2,5 \times 10^5$ CFU/mL). Testy przeprowadzono z wykorzystaniem 5 serii na każdym z trzech aparatów Panther System z całkowitą liczbą 2 936 próbek ujemnych. Ogólny wskaźnik przenoszenia wyniósł 0% przy przedziale 95% ufności wynoszącym 0-0,1%. Cztery ujemne próbki zostały zgłoszone jako nieważne i zostały wyłączone z obliczeń.

Badanie zgodności próbek klinicznych

Zgodność próbek klinicznych pomiędzy oryginalną i zaktualizowaną wersją testu Aptima Combo 2 została oceniona na podstawie próbek wymazów pobranych od pacjentów poddawanych badaniom przesiewowym w kierunku *Chlamydia trachomatis* (CT) i/lub *Neisseria gonorrhoeae* (GC). Pojedynczy replikat każdej próbki został przebadany przy użyciu zarówno oryginalnej, jak i zaktualizowanej wersji testu Aptima Combo 2 w aparacie Panther System. Tabela 29 i Tabela 30 pokazują procentową zgodność wyników dodatnich, ujemnych i ogólną w kierunku CT i GC dla 325 ocenianych próbek.

Tabela 29: Badanie zgodności dla próbek klinicznych *Chlamydia trachomatis*

		Oryginalna wersja testu AC2	
		CT dodatni	CT ujemny
Zaktualizowana wersja testu AC2	CT dodatni	49	3
	CT ujemny	0	273
Zgodność procentowa wyników dodatnich (95% C.I.): 100% (92,7% – 100%)			
Zgodność procentowa wyników ujemnych (95% C.I.): 98,9% (96,9% – 99,6%)			
Ogólna zgodność procentowa (95% C.I.): 99,1% (97,3% – 99,7%)			

Tabela 30: Badanie zgodności dla próbek klinicznych *Neisseria gonorrhoeae*

		Oryginalna wersja testu AC2	
		GC dodatni	GC ujemny
Zaktualizowana wersja testu AC2	GC dodatni	47	1
	GC ujemny	0	275
Zgodność procentowa wyników dodatnich (95% C.I.): 100% (92,4% – 100%)			
Zgodność procentowa wyników ujemnych (95% C.I.): 99,6% (98,0% – 99,9%)			
Ogólna zgodność procentowa (95% C.I.): 99,7% (98,3% – 99,9%)			

Dwie próbki z niejednoznaczными wynikami GC zostały wyłączone z tej analizy.

Typy próbek pozagenitalnych (próbki wymazów z gardła i odbytnicy)

Podsumowanie

Łącznie, przedstawione poniżej dane analityczne i kliniczne przemawiają za stosowaniem testu Aptima Combo 2 do badania próbek wymazów z gardła i odbytnicy w celu jakościowego wykrywania i różnicowania rybosomalnego RNA (rRNA) bakterii *Chlamydia trachomatis* (CT) i/lub *Neisseria gonorrhoeae* (GC), aby wspomóc diagnostykę chorób chlamydialnych i/lub gonokokowych.

Badanie czułości analitycznej

Dla wymazów z gardła i odbytnicy określono 95% granicę wykrywalności dla wymazów pozagenitalnych przy użyciu testu Aptima Combo 2. Do puli tych wymazów wprowadzono dwa serotypy CT (E i G) oraz dwa kliniczne izolaty GC. Panele były testowane na dwóch aparatach Panther System przy użyciu jednej partii odczynników w replikatach po co najmniej 20 sztuk w ciągu ośmiu dni.

95% granica wykrywalności dla wymazów z gardła wynosi 0,005 IFU/mL (95% CI 0,003-0,020) dla CT i 0,10 CFU/mL (95% CI 0,09-0,13) dla GC. 95% granica wykrywalności dla wymazów z odbytnicy wynosi 0,007 IFU/mL (95% CI 0,005-0,023) dla CT i 0,10 CFU/mL (95% CI 0,09-0,12) dla GC.

Dane dotyczące skuteczności klinicznej

Oceniono dane kliniczne z 15 artykułów literatury naukowej (1, 2, 3, 13, 16, 19, 21, 31, 34, 38, 39, 48, 49, 52, 53), z których każdy opisywał zastosowanie testu Aptima Combo 2 w badaniu próbek pozagenitalnych.

W przypadku próbek wymazu z gardła w kierunku CT, badania wykazały szacunkową czułość na poziomie 100% i swoistość na poziomie 100% (38). W przypadku próbek wymazu z odbytnicy w kierunku CT, badania wykazały szacunkową czułość od 71% do 100% oraz szacunkową swoistość od 95,6% do 100% (1, 2, 3, 13, 34, 38).

W przypadku próbek wymazu z gardła w kierunku GC, badania wykazały szacunkową czułość od 88,2% do 100% oraz szacunkową swoistość od 87,8% do 100% (2, 38). W przypadku próbek wymazu z odbytnicy w kierunku GC, badania wykazały szacunkową czułość od 75% do 100% oraz szacunkową swoistość od 87,9% do 100%. (3, 13, 21, 34, 38, 48).

Reaktywność krzyżowa mikroorganizmów

Lista mikroorganizmów badanych pod kątem reaktywności krzyżowej w wymazach z gardła i odbytnicy znajduje się w Tabeli 16.

Potencjalne substancje zakłócające

Następujące substancje zakłócające, które mogą znajdować się na wymazach pozagenitalnych, zostały indywidualnie wprowadzone do STM: lek na przeziębienie, pomadka do ust, krem na hemoroidy, ludzki kał, środek na kaszel, pasta do zębów, płyn do płukania ust, czopek przeczyszczający, lek przeciwbiegunkowy i środek zobojętniający. Wszystkie badano pod kątem potencjalnego zakłócenia testu w nieobecności i obecności CT i GC przy 3-krotnie wyższym stężeniu niż 95% granica wykrywalności dla danego typu próbki. Próbki z domieszką CT i GC wykazały co najmniej 95% wyników dodatnich w obecności tych substancji. Substancje bez domieszki CT lub GC nie dały dodatniego wyniku w kierunku CT lub GC.

Postępowanie z próbkami i ich stabilność

Dane wspierające zalecane warunki przechowywania próbek wymazów pozagenitalnych zostały wygenerowane na podstawie zbioru ujemnych próbek wymazów. Do puli próbek z gardła i odbytnicy wprowadzono CT i GC w stężeniach 2-krotnie przekraczających 95-procentową granicę wykrywalności dla każdego rodzaju próbki wymazu. Próbki z domieszką przechowywano w temperaturze -70°C, -20°C, 4°C i 30°C. Próbki badano w dniach 0, 8, 15, 23, 36 i 60. Wszystkie warunki badania były w co najmniej 95% dodatnie, zarówno dla CT, jak i GC we wszystkich czasach i temperaturach.

Bibliografia

1. **Alexander S i in.** 2007. *Confirming the Chlamydia trachomatis status of referred rectal specimens.* Sex Transm Infect. Jul 83(4):327-9. Epub, 2 maja 2007 r.
2. **Alexander S i in.** 2008. Self-taken pharyngeal and rectal swabs are appropriate for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in asymptomatic men who have sex with men. Sex Transm Infect. Lis 84(6):488-92.
3. **Bachmann LH i in.** 2010. Nucleic Acid Amplification Tests for Diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* Rectal Infections. J. Clin. Microbiol. 48(5):1827.
4. **Beem, M. O. i E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. NEJM 296:306-310.
5. **Berger R, Alexander E, Harnisch J i in.** 1979. Etiology, manifestations and therapy of acute epididymitis: prospective study of 50 cases. J Urol, 121(6), 750-754.
6. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram i H. H. Lee.** 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. J. Clin. Microbiol. 34:2395-2400.
7. **Cates, Jr., W. i J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. Am. J. Obstet. Gynecol. 164:1771-1781.
8. **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).
9. **Centra Kontroli i Prewencji Chorób.** *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2018.* Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services; 2019. DOI: 10.15620/cdc.79370.
10. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano i J. B. Mahony.** 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. Mol. Cell. Probes. 11:243-249.
11. **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.
12. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrich, 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 Test Aptima Combo 2 when testing for inhibitors. J. Clin. Microbiol. 41:778-782.
13. **Cosentino LA i in.** 2012. Use of nucleic acid amplification testing for diagnosis of anorectal sexually transmitted infections. J Clin Microbiol. Cze 50(6): 2005-2008.
14. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos i T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Hologic AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. J. Clin. Microbiol. 36:391-394.
15. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. 37:386-390.
16. **Freeman AH i in.** 2011. Evaluation of self-collected versus clinician-collected swabs for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* pharyngeal infection among men who have sex with men. Sex Transm Dis. Lis 38(11):1036-1039.
17. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang i K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. Journal of Pediatrics 95:28-32.
18. **Gaydos, C. A., T.C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro oraz J. Schachter.** 2003. Performance of the Test Aptima Combo 2 for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. J. Clin. Microbiol. 41:304-309.
19. **Geiger R i in.** 2016. Investigation of the GeneXpertCT/NG assay for use with male pharyngeal and rectal swabs. Int J STD AIDS. Sierpień.
20. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh i R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. J. Clin. Microbiol. 35:2628-2633.
21. **Harryman L i in.** 2012. Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of *Neisseria gonorrhoeae* from genital and extragenital sites: a retrospective study. Sex Transm Infect. Lut 88(1):27-31.
22. **Hokynar K, i in.** The Finnish New Variant of *Chlamydia trachomatis* with a Single Nucleotide Polymorphism in the 23S rRNA Target Escapes Detection by the Aptima Combo 2 Test. Microorganisms 2019, 7(8), 227. <https://www.mdpi.com/2076-2607/7/8/227/htm>.
23. **Holmes, K. K., G. W. Counts i H. N. Beatz.** 1971. Disseminated Gonococcal infection. Ann. of Intern. Med. 74:979-993.
24. **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.
25. **Hook, E. W., III oraz H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal infections in the adult. str. 458. In K. Holmes i in. (wyd.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, NY.
26. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh i T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. J. Clin. Microbiol. 31:1209-1212.

27. **Johansen TB i in.** The 'Finnish new variant of *Chlamydia trachomatis*' escaping detection in the Aptima Combo 2 Assay is widespread across Norway, czerwiec do sierpnia 2019. Euro Surveill. 2019;24(42):pii=1900592. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.42.1900592>.
28. **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.
29. **Lanjouw E i in.** Int J STD AIDS. 2015. 2015 European guideline on the management of *Chlamydia trachomatis* infections. <https://www.iusti.org/regions/Europe/pdf/2015/Chlamydia2015.pdf>.
30. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors i M. Chernesky.** 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. J. Clin. Microbiol. **36**:3122-3126.
31. **Mahto M., Mallinson H.** 2012. Response to 'Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of *Neisseria gonorrhoeae* from genital and extragenital sites: a retrospective study. Sex Transm Infect. Kwi; **88**(3):211.
32. **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.
33. **McCurdy, Brenda W.** 1997. Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory. Luty, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
34. **Moncada J i in.** 2009. Evaluation of self-collected glans and rectal swabs from men who have sex with men for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by use of nucleic acid amplification tests. J Clin Microbiol. Cze **47**(6): 1657-62.
35. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (tom 19, nr 2).
36. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
37. **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).
38. **Ota KV i in.** 2009. Detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in pharyngeal and rectal specimens using the BD Probetec ET system, the Hologic Aptima Combo 2 Assay and culture. Sex Transm Infect. Cze **85**(3):182-6.
39. **Papp JR i in.** 2007. The use and performance of oral-throat rinses to detect pharyngeal *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infections. Diagn Microbiol Infect Dis. Lis **59**(3):259-264. Epub, 26 lip 2007 r.
40. **Papp JR, Schachter J, Gaydos CA i in.** Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*-2014. MMWR Recomm Rep. 2014;63:1-19. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047970>.
41. **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.
42. **Rantakokko-Jalava in.** *Chlamydia trachomatis* samples testing falsely negative in the Aptima Combo 2 test in Finland, 2019. Euro Surveill. 2019;24(22):pii=1900298. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.22.1900298>.
43. **Roberts DJ i in.** Prevalence of new variants of *Chlamydia trachomatis* escaping detection by the Aptima Combo 2 Assay, Anglia, czerwiec do sierpnia 2019. Euro Surveill. 2019;24(38):pii=1900557. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.38.1900557>.
44. **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.
45. **Schachter, J. i M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. Ann. Rev. Med. **32**:45-61.
46. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). NEJM **298**:540-549.
47. **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.
48. **Schachter J i in.** 2008. Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of chlamydial and gonococcal infections of the oropharynx and rectum in men who have sex with men. Sex Transm Dis. Lip **35**(7):637-642.
49. **Sexton ME i in.** 2013. How reliable is self-testing for gonorrhea and chlamydia among men who have sex with men? J Fam Pract. Lut **62**(2):70-78.
50. **Sary, 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.
51. **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.
52. **Turner AN i in.** HIV, rectal chlamydia, and rectal gonorrhoeae in men who have sex with men attending a sexually transmitted disease clinic in a Midwestern US city. Sex Transm Dis. Cze **40**(6):433-438.
53. **Turra M i in.** 2015. Detection and Confirmation of *Neisseria gonorrhoeae* Infections in Genital and Extragenital Samples using Aptima Assays on the Panther™ Instrument. Microbiol Pathol. **1**(2): 018.
54. **Unemo i Clarke.** The Swedish new variant of *Chlamydia trachomatis*. Curr Opin Infect Dis. Lut 2011;24(1):62-9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21157332>.

55. **Unemo M i in.** List do wydawcy: Chlamydia trachomatis samples testing falsely negative in the Aptima Combo 2 test in Finland, 2019. Euro Surveill. 2019;24(24);pii=1900354. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.24.1900354>.
56. **Unemo M i in.** Finnish new variant of Chlamydia trachomatis escaping detection in the Aptima Combo 2 Assay also present in Örebro County, Szwecja, maj 2019. Euro Surveill. 2019;24(26);pii=1900370. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.26.1900370>.
57. **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.
58. **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. **3**:74-80.
59. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins i H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. Infect. Immun. **57**:1040-1049.



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



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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.

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, ThinPrep i Tigris są 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.
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.

© 2001-2020 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

AW-19693-3401 Wer. 001
2020-04