

Test Aptima™ Neisseria gonorrhoeae

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Pouze pro export z USA.

Všeobecné informace	2
Určené použití	2
Souhrn a vysvětlení testu	2
Principy metody	3
Varování a bezpečnostní opatření	4
Požadavky na skladování reagensů a manipulaci s nimi	6
Odběr a uchování vzorku	7
Interpretace testu - Kontrola kvality / Výsledky pacienta	35
Omezení	38
Výsledky klinické studie	40
Očekávané hodnoty systémů DTS	41
Klinická výkonnost systémů DTS	44
Shoda klinických vzorků systému Tigris DTS	61
Analytická výkonnost Tigris DTS systémů	64
Analytická výkonnost systému Panther	68
Literatura	70

DTS™ Systems

Systémy DTS	9
Dodávané materiály a reagensie	9
Potřebný materiál, který se dodává zvlášť	10
Volitelné materiály	11
Testovací postup systémů DTS	12
Poznámky k postupu	18

Panther™

Systém Panther	29
Dodávané materiály a reagensie	29
Potřebný materiál, který se dodává zvlášť	30
Volitelné materiály	31
Testovací postup systému Panther	31
Poznámky k postupu	34

Tigris™ DTS™

Systém Tigris DTS	22
Dodávané materiály a reagensie	22
Potřebný materiál, který se dodává zvlášť	24
Volitelné materiály	25
Testovací postup systému Tigris DTS	25
Poznámky k postupu	27

Všeobecné informace

Určené použití

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

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

Souhrn a vysvětlení testu

Infekce *Neisseria gonorrhoeae* je jedna z nejčastěji se vyskytujících pohlavně přenosných infekcí na celém světě. Pouze ve Spojených státech bylo v roce 2010 (2) Středisku pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) hlášeno 309 341 nových případů infekce GC (100,8 případů na populaci 100 000 jedinců).

N. gonorrhoeae je kauzální činitel onemocnění kapavkou. *N. gonorrhoeae* jsou nepohyblivé, gramnegativní diplokoky. Infekce kapavky jsou většinou nekomplikované infekce dolního genitálního traktu a mohou být asymptomatické. Nicméně, pokud jsou u žen ponechány bez léčby, infekce se mohou ascendentně šířit a způsobit PID. PID se může manifestovat jako endometritis, salpingitis, pánevní peritonitis a tuboovariální abscesy. U malého procenta osob s gonokokovými infekcemi se může vyvinout diseminovaná gonokoková infekce (DGI) (8, 11).

Konvenční diagnostika GC infekce vyžaduje izolaci organismu na selektivních médiích nebo zjištění diplokoků ve stěrech obarvených dle Grama (9). Kultivační metody mohou poskytnout dobrou klinickou citlivost, ale jsou vysoce závislé na správné manipulaci se vzorkem. Nesprávné uchování vzorku a jeho transport mohou způsobit ztrátu životaschopnosti organismu a falešně negativní výsledky. Kromě toho mohou být falešně negativní výsledky také způsobeny špatnou odběrovou technikou, toxickými odběrovými materiály a inhibicí růstu součástí tělesných sekretů (3, 10). Běžně používané nekultivační metody pro detekci GC zahrnují přímé testy DNA sondy a amplifikační testy nukleové kyseliny (nucleic acid amplification tests - NAAT).

První generace testů NAAT pro GC má technologické problémy, které způsobují jejich omezenou výkonnost. Tyto problémy zahrnují těžkopádné zpracování a inhibici vzorku, které mohou způsobovat falešně negativní výsledky (6). Test Aptima *Neisseria gonorrhoeae* (Aptima GC) je druhou generací NAAT, která využívá technologie zachycení cíle, transkripčně zprostředkovanou amplifikaci (Transcription-Mediated Amplification - TMA™) a test hybridizační ochrany (Hybridization Protection Assay - HPA) pro zjednodušené zpracování vzorku, amplifikaci cílové rRNA a detekci amplikonu. Studie srovnávající výkonnost a inhibici vzorku různých amplifikačních systémů prokázaly přínos technologií zachycení cíle, TMA a HPA (4, 7).

V pokynech CDC z roku 2002 pro screening infekcí *Chlamydia trachomatis* a *Neisseria gonorrhoeae* se doporučuje několik možností následných kontrol v případě pozitivního screeningu „pokud lze očekávat nízkou pozitivní prediktivní hodnotu nebo pokud by falešně pozitivní výsledek měl vážné psychosociální nebo právní důsledky“ (1). Jednou z těchto možností dalšího testování může být jiný test amplifikace nukleové kyseliny schválený Úřadem pro potraviny a léky FDA, ve kterém se používá jiný cíl než v původním testu. Testy Aptima GC a Aptima Combo™ 2 se pro zachycení a detekci cíle zaměřují na subjednotku 16S rRNA. Sonda pro zachycení cíle je u obou testů shodná, ale test Aptima GC při detekci identifikuje jinou oblast subjednotky 16S rRNA než test Aptima Combo 2.

Principy metody

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

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

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

Varování a bezpečnostní opatření

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

Související s laboratoří

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

Specifické pro systémy DTS

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

Související se vzorkem

- J. Tato metoda byla testována pouze s použitím endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské uretry, tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt, vzorků z vaginálních výtěrů a vzorků moči žen a mužů. Výkonnost testu s jinými vzorky, než jsou uvedeny v části Odběr a uchování vzorku nebyla hodnocena.

Laboratoře mohou schválit jiné odběrové prostředky (12, 14).

- K. Data použitelnosti uvedená na odběrových soupravách se vztahují na místo odběru a nikoliv na testovací zařízení. Vzorky odebrané kdykoliv před datem použitelnosti odběrové soupravy a přepravované a uchovávané v souladu s příbalovou informací, jsou platné pro testování, dokonce i v případě, že uplynula doba použitelnosti na odběrové zkumavce.

- L. Roztok PreservCyt byl schválen jako alternativní médium pro testování pomocí testu Aptima GC. Tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt, zpracované pomocí procesoru ThinPrep 3000 nebo jiných přístrojů, nebyly hodnoceny pro testování přítomnosti *Neisseria gonorrhoeae* testem Aptima GC.
- M. Po přidání moči musí být hladina kapaliny v přepravní zkumavce pro vzorek moči mezi dvěma černými indikačními linkami na štítku zkumavky. Jinak musí být vzorky odmítnuty.
- N. Při přepravě vzorků dodržujte správné podmínky uchovávání, aby byla zajištěna integrita vzorku. Stabilita vzorku nebyla hodnocena za jiných přepravních podmínek než těch, které jsou doporučeny.
- O. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření. Metody správné manipulace a likvidace musí stanovit ředitel laboratoře. Tento diagnostický postup může provádět pouze personál adekvátně vyškolený pro manipulaci s infekčními materiály.
- P. Během manipulace se vzorkem zamezte zkřížené kontaminaci. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké hladiny mikroorganismů. Ujistěte se, že nádoby na vzorky nejsou ve vzájemném kontaktu a použité materiály zlikvidujte, aniž byste je přenášeli nad otevřenými nádobami. Vyměňte si rukavice, pokud se dostanou do styku se vzorkem.
- Q. Pokud laboratoř obdrží přepravní zkumavku, v níž není žádná odběrová tyčinka, jsou v ní dvě tyčinky, čisticí tyčinka nebo tyčinka, kterou nedodává společnost Hologic, je třeba vzorek odmítnout. Před odmítnutím přepravní zkumavky pro výtěr bez tyčinky si ověřte, že nejde o zkumavku Aptima pro přenos vzorků, protože tato zkumavka nebude obsahovat tyčinku.
- R. U tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt proveďte odběr dle pokynů výrobce. Alikvoty následně odebrané z lahvičky PreservCyt pro testování testem Aptima GC musí být zpracovány pouze pomocí soupravy Aptima pro přenos vzorků.
- S. Při propíchnutí může za určitých podmínek dojít k úniku tekutiny z uzávěrů přepravních zkumavek Aptima. Dodržujte pokyny uvedené v příslušné části *Testovací postup*, aby k tomuto problému nedošlo.

Související s testem

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

Specifické pro systémy DTS

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

Požadavky na skladování reagensů a manipulaci s nimi

- A. Následující reagensie jsou stabilní při uchovávání při teplotě 2 °C až 8 °C (v chladničce):
 - Amplifikační reagensie Aptima GC
 - Enzymatická reagensie Aptima
 - Reagensie sondy Aptima GC
 - Reagensie B pro zachycení cíle Aptima
 - Pozitivní kontrola GC/negativní kontrola CT Aptima
 - Pozitivní kontrola CT/negativní kontrola GC Aptima
- B. Následující reagensie jsou stabilní při uchovávání při teplotě 2 °C až 30 °C:
 - Amplifikační rekonstituční roztok Aptima GC
 - Enzymatický rekonstituční roztok Aptima
 - Rekonstituční roztok sondy Aptima GC
 - Selekční reagensie Aptima
- C. Následující reagensie jsou stabilní při uchovávání při teplotě 15 °C až 30 °C (pokojové teplotě):
 - Reagensie pro zachycení cíle Aptima GC
 - Promývací roztok Aptima
 - Pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny
 - Olejová reagensie Aptima

- D. Pracovní reagentie pro zachycení cíle GC (Working Target Capture Reagent - wTCR GC) je stabilní po dobu 60 dnů, pokud je uchovávána při teplotě 15 °C až 30 °C. Neukládejte do chladničky.
- E. Po rekonstituci jsou enzymatické reagentie, amplifikační reagentie GC a reagentie sondy GC stabilní po dobu 60 dnů, pokud jsou uchovávány při teplotě 2 °C až 8 °C.
- F. Zlikvidujte veškeré nepoužité rekonstituované reagentie a wTCR po 60 dnech nebo po uplynutí doby použitelnosti hlavní šarže reagentie, dle toho, co nastane dříve.
- G. Kontroly jsou stabilní do data uvedeného na zkumavkách.
- H. Reagentie v lahvičkách pro 100 testů skladované uvnitř systému Tigris DTS mají stabilitu uvnitř po dobu 96 hodin.
- I. Reagentie skladované uvnitř systému Panther mají stabilitu uvnitř po dobu 72 hodin.
- J. Reagentie sondy GC a rekonstituované reagentie sondy GC jsou fotosenzitivní. Uchovávejte reagentie chráněné před světlem.
- K. Při zahřátí na pokojovou teplotu se mohou některé kontrolní zkumavky zakalit nebo mohou obsahovat precipitáty. Zákal nebo precipitace u kontrol neovlivňují výkonnost dané kontroly. Kontroly je možné použít bez ohledu na to, zda jsou čiré nebo zakalené/s precipitátem. Pokud je třeba čirých kontrol, je možné zajistit jejich rozpuštění inkubací při horní hranici rozmezí pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
- L. **Reagentie nezmrazujte.**

Odběr a uchovávání vzorku

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

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

A. Pokyny pro odběr:

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

B. Přeprava a uchovávání vzorku před testováním:

1. Výtěry:

- a. Po odběru výtěrů přepravujte a uchovávejte v přepravní zkumavce při teplotě 2 °C až 30 °C do doby, než budou testovány. Vzorky musí být testovány pomocí testu Aptima GC do 60 dnů od odběru. Pokud je nutné delší uchovávání, zmrazte po

odběru na teplotu -20 °C až -70 °C po dobu maximálně 12 měsíců od odběru (viz *Studie stability vzorku*).

2. Vzorky moči:

- a. Vzorky moči, které jsou stále v primární sběrné nádobě, musí být přepravovány do laboratoře při teplotě 2 °C až 30 °C. Přeneste vzorek moči do přepravní zkumavky Aptima na vzorky moči do 24 hodin od odběru. Uchovávejte při teplotě 2 °C až 30 °C a testujte do 30 dnů od odběru.
- b. Po odběru přepravujte zpracované vzorky moči v přepravní zkumavce Aptima na vzorky moči při teplotě 2 °C až 30 °C a uchovávejte při teplotě 2 °C až 30 °C, dokud nebudou testovány. Zpracované vzorky moči musí být testovány pomocí testu Aptima GC do 30 dnů od odběru. Pokud je nutné delší uchování, zmrazte po odběru na teplotu -20 °C až -70 °C po dobu maximálně 12 měsíců od odběru (viz *Studie stability vzorku*).

3. Tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt:

- a. Tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt určené pro GC testování musí být zpracovány pro cytologii nebo přeneseny do zkumavky Aptima pro přenos vzorků do 30 dnů od odběru, pokud jsou uchovány při teplotě 2 °C až 30 °C (viz *Studie stability vzorku*).
- b. Pokud bude použit postup odebrání alikvotních podílů ThinPrep, přečtěte si *Dodatek k návodu k obsluze procesoru ThinPrep 2000 nebo ThinPrep 3000 (ThinPrep 2000, ThinPrep 3000 Processor Operator's Manual - Addendum)*, kde jsou uvedeny pokyny pro odebrání alikvotních podílů. Přeneste 1 mL alikvotního podílu do zkumavky Aptima pro přenos vzorků dle pokynů v příbalové informaci k soupravě Aptima pro přenos vzorků.
- c. Pokud testujete vzorek po zpracování s použitím procesoru ThinPrep 2000, zpracujte tekutý Pap vzorek v roztoku PreservCyt v souladu s *návodem k obsluze procesoru ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* a příbalovou informací k soupravě Aptima pro přenos vzorků. Přeneste 1 mL kapaliny zbývající v lahvičce roztoku PreservCyt do zkumavky Aptima pro přenos vzorků dle pokynů v příbalové informaci k soupravě Aptima pro přenos vzorků.
- d. Jakmile je tekutý Pap vzorek v roztoku PreservCyt přenesen do zkumavky Aptima pro přenos vzorků, musí být vzorek testován pomocí testu Aptima GC do 30 dnů, pokud je uchováván při teplotě 2 °C až 8 °C nebo 14 dnů při teplotě 15 °C až 30 °C. Pokud je potřebné delší uchování, zmrazte vzorek při teplotě -20 °C až -70 °C na dobu maximálně 12 měsíců po přenosu (viz *Studie stability vzorku*).

C. Uchování vzorků po testování:

1. Vzorky musí být po proběhnutí testu uloženy vertikálně ve stojanu.
 2. Přepravní zkumavky na vzorek musí být zakryty novou čistou plastovou nebo fóliovou bariérou.
 3. Pokud je třeba testované vzorky zmrazit nebo přepravovat, odstraňte propichovací uzávěr a na přepravní zkumavky umístěte nový nepropichovací uzávěr. Pokud je třeba vzorky odeslat pro testování do jiného zařízení, je nutno dodržovat doporučené teploty. Před odstraněním uzávěru z dříve testovaných a znova uzavřených vzorků musí být přepravní zkumavky odstředěny po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle (Relative Centrifugal Force - RCF) 420, aby se veškerá kapalina dostala na dno zkumavky.
- Zabraňte rozstříkání a zkřížené kontaminaci.**

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

Systémy DTS

Reagencie testu Aptima GC pro systémy DTS jsou uvedeny níže. Vedle názvu reagencie jsou také uvedeny identifikační symboly reagencie.

Dodávané materiály a reagencie

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

Souprava testu Aptima Neisseria gonorrhoeae, 100 testů (2 krabice) (kat. č. 301091)

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

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

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

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

Symbol	Složka	Množství
AR	Amplifikační rekonstituční roztok Aptima GC <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 9,3 mL
ER	Enzymatický rekonstituční roztok Aptima <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 3,3 mL
PR	Rekonstituční roztok sondy Aptima GC <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 x 12,4 mL

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

Symbol	Složka	Množství
S	Selekční reagentie Aptima <i>600 mM boritanem pufovaný roztok obsahující surfaktant.</i>	1 x 31 mL
	Rekonstituční objímky	3
	Uzavírací karty	1 balení

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

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

Potřebný materiál, který se dodává zvlášť

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

	<u>Kat. č.</u>
Luminometr Leader HC+	104747-01
Systém zachycení cíle Hologic (Target Capture System - TCS)	104555
Inkubátory a vortexové třepačky:	
2 vortexové multitřepačky	102160
3 oběhové vodní lázně (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	104586
3 vložky do vodní lázně	104627
NEBO	
2 třepačky se suchým teplem SB100	105524
<i>Mohou být nutné další SB100 zařízení, pokud se objem testů zvýší</i>	
Souprava Aptima Auto Detect	301048
2 opakovací pipetory eppendorf Repeater Plus	105725
2 pipetory, 1 000 µL RAININ PR1000	901715
eppendorf pipetor, 20 µL až 200 µL	105726
Špičky pro opakovací pipetory, 2,5 mL	21-381-329
Špičky pro opakovací pipetory, 5,0 mL	21-381-330
Špičky pro opakovací pipetory, 25,0 mL	21-381-115

	<u>Kat. č.</u>
Špičky, typ P1000	105049
<i>Špička se speciálním průměrem dostupná pouze u Hologic</i>	
Pipetové špičky, 20 µL až 200 µL	705512 (Fisher)
Jednotky deseti zkumavek (Ten Tube Units - TTU)	TU0022
Kazety s deseti špičkami (Ten Tip Cassettes - TTC)	104578
Odběrová souprava tyčinek Aptima Unisex pro vzorky endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské močové trubice	301041
Odběrová souprava Aptima pro vzorky moči mužů a žen	301040
Přepravní zkumavky Aptima pro vzorky moči mužů a žen	105575
Odběrová souprava tyčinek Aptima pro vzorky vaginálních výtěrů	301162
Souprava pro odběr stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Souprava Aptima pro přenos vzorků	301154C
Kalibrační standard SysCheck	301078
Bělidlo, 5 % až 7 % (0,7 M až 1,0 M) roztok chlornanu sodného	—
Standardní kontejnery na sběr moči, bez konzervačních látek	—
Plastový kontejner s velkým uzávěrem	—
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A

Volitelné materiály

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

Testovací postup systémů DTS

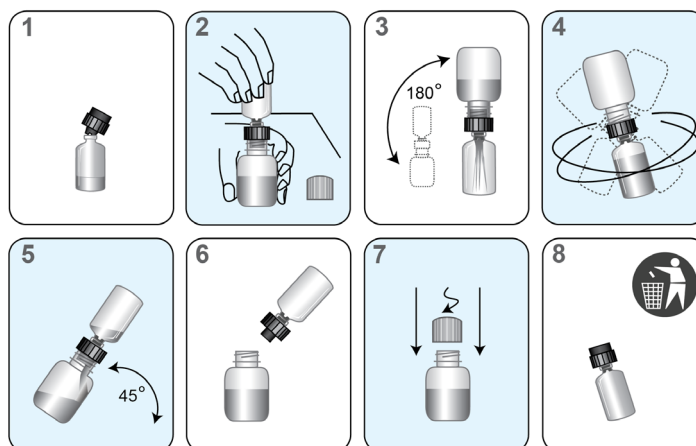
A. Příprava zařízení

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

B. Rekonstituce reagentie

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

1. Chcete-li rekonstituovat amplifikační reagentie GC, enzymatické reagentie a reagentie sondy GC, zkombinujte lahvičky lyofilizované reagentie s rekonstitučním roztokem. V případě uložení v chladničce nechte rekonstituční roztoky před použitím dosáhnout pokojové teploty.
 - a. Spárujte příslušný rekonstituční roztok s lyofilizovanou reagentií. Označení je barevně kódováno, a tak je zajištěno správné spárování.
 - b. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagentií a pevně zasuňte konec rekonstituční objímky s drážkou do otvoru v lahvičce (obrázek 1, krok 1).
 - c. Otevřete odpovídající lahvičku rekonstitučního roztoku a umístěte uzávěr na čistý zakrytý pracovní povrch.
 - d. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na pracovní desce, pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do láhve (obrázek 1, krok 2).
 - e. Sestavenou láhev a lahvičku pomalu otáčejte. Nechte roztok vytéct z láhve do skleněné lahvičky (obrázek 1, krok 3).
 - f. Jemně roztokem v lahvičce zakružte aby se promíchal. Při kroužení lahvičkou zamezte vzniku pěny (obrázek 1, krok 4).
 - g. Počkejte, až se lyofilizovaná reagentie rozpustí v roztoku a pak převraťte sestavenou láhev s lahvičkou ještě jednou nakloněním v úhlu 45° , aby se minimalizoval vznik pěny (obrázek 1, krok 5). Nechte veškerou kapalinu natéct zpět do láhve.
 - h. Odstraňte rekonstituční objímku z láhve (obrázek 1, krok 6).
 - i. Lahvičku znovu uzavřete. Zaznamenejte iniciály obsluhy a datum rekonstituce na štítku (obrázek 1, krok 7).
 - j. Rekonstituční objímku a lahvičku zlikvidujte (obrázek 1, krok 8).



Obrázek 1. Rekonstituční proces v systémech DTS

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

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

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

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

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

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

C. Zachycení cíle

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

Příprava stojanu

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

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

5. Pokud mají být testovány vzorky se standardními (nepropichovacími) uzávěry, musí být odstředěny po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle (RCF) 420, aby byla před odstraněním uzávěru veškerá kapalina na dně zkumavky. **Zabraňte rozstříkávání a zkřížené kontaminaci.**
6. Do stojanu na jednotky deseti zkumavek (TTU) umístěte dostatek jednotek TTU pro kontroly a vzorky.
7. Pokud je potřebný pracovní seznam, vytvořte ho v tento okamžik. Pokyny k vytvoření pracovního seznamu naleznete v *Návodu k obsluze softwaru pro test Aptima (Aptima Assay Software Operator's Manual)*.
8. Řádně promíchejte wTCR GC. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte 100 µL do každé reakční zkumavky.

9. **První reakční zkumavka testu musí obsahovat negativní kontrolu a druhá reakční zkumavka musí obsahovat pozitivní kontrolu.**
 - a. Štítek negativní kontroly pro test Aptima GC je růžový. Text na štítku označuje negativní kontrolu „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“. Štítek pozitivní kontroly pro test Aptima GC je modrozelený. Text na štítku označuje pozitivní kontrolu jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“.
 - b. Držte zkumavku s negativní kontrolou (označenou růžovým štítkem) v jedné ruce nebo ji nechte na stojanu. Pomocí mikropipetoru propíchněte uzávěr a dávejte pozor, abyste špičkou mikropipetoru nenarazili do dna zkumavky. Přidejte 400 µL negativní kontroly (označené růžovým štítkem) do první reakční zkumavky. Stejným způsobem a novou pipetovací špičkou přidejte 400 µL pozitivní kontroly (označené modrozeleným štítkem) do druhé reakční zkumavky.
10. Pokračujte s přípravou stojanu přidáním 400 µL každého vzorku do zbývajících reakčních zkumavek. Používejte novou pipetovací špičku pro každý vzorek a kontrolu. Přijatelný objem vzorku nebo kontroly přidány do reakční zkumavky je 400 µL ± 100 µL. Další informace viz část *Poznámky k postupu a Pipetování kontroly a vzorku*.

Zachycení cíle

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

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

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

20. Po dokončení aspirace vysuňte špičky do jejich původní TTC kazety. Opakujte aspirační kroky pro zbývající jednotky TTU a přitom používejte vyhrazenou špičku pro každý vzorek.
21. Umístěte rozdělovací potrubí nad každou TTU a za použití čerpadla rozdělovací stanice přidejte 1,0 mL promývacího roztoku Aptima do každé zkumavky TTU.
22. Uzavřete zkumavky uzavírací kartou a vyjměte stojan z magnetické základny TCS. Jednou stojan promíchejte ve vortexové multi-třepačce. Další informace viz část *Poznámka k postupu a Míchání ve vortexové třepačce*.
23. Stojan umístěte na magnetickou základnu TCS na 5 až 10 minut.
24. Nasajte všechny roztoky, jak je popsáno v krocích 19 a 20.
25. Po poslední aspiraci vyjměte stojan z magnetické základny TCS a vizuálně zkontrolujte zkumavky, abyste se ujistili, že byla aspirována veškerá kapalina a že všechny zkumavky obsahují pelety magnetických částic. Pokud je viditelná jakákoliv kapalina, umístěte stojan zpět na magnetickou základnu TCS na 2 minuty a opakujte aspiraci pro tuto jednotku TTU pomocí stejných špiček použitých předtím pro každý vzorek.

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

D. Amplifikace

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

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

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

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

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

1. Hybridizace

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

2. Selekcce

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

3. Detekce

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

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

Poznámka: *Toto teplotní rozmezí je kritické pro výkonnost testu.*

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

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

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

Poznámky k postupu

A. Kontroly

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

B. Pipetování kontroly a vzorku

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

C. Reagencie

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

D. Teplota

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

E. Čas

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

F. Míchání ve vortexové třepačce

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

G. Vodní lázně

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

H. Dekontaminace

1. Povrchy a pipetory

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

2. Aspirační potrubí TCS

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

3. Odpadní kontejner systému TCS

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

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

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

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

4. Jednotka systému zachycení cíle (TCS)

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

5. Stojany

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

I. Kontaminace testu

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

J. Protokol monitorování kontaminace laboratoře pro systémy DTS

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

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

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

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

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

K. Řešení problémů

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

Systém Tigris DTS

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

Dodávané materiály a reagentie

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

Souprava testu Aptima Neisseria gonorrhoeae

100 testů (2 krabice a 1 souprava kontrol) (kat. č. 303092)

Chladicí box pro test Aptima Neisseria gonorrhoeae (Krabice 1 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě od 2 °C do 8 °C)

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

Box s pokojovou teplotou pro test Aptima Neisseria gonorrhoeae (Krabice 2 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě od 15 °C do 30 °C)

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

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

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

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

Potřebný materiál, který se dodává zvlášť

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

	<u>Kat. č.</u>
Systém Tigris DTS	105118
Souprava kapalin pro test Aptima <i>(Promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivální kapalinu a olejová reagensie Aptima)</i>	302382
Souprava Aptima Auto Detect	301048
Souprava konzervantů kapalin pro systém Aptima	302380
Špičky, 1 000 µL, vodivé, detekující kapalinu	10612513 (Tecan)
Souprava pro cykly systému Tigris DTS obsahující <i>Jednotky pro více zkumavek (Multi-tube Units - MTU) 104772-02</i> <i>Souprava odpadního vaku na MTU/špičky 900907</i> <i>Deflektor pro odpadové MTU 900931</i> <i>Kryty pro odpad MTU 105523</i>	301191
Souprava Aptima pro přenos vzorků <i>pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt</i>	301154C
Odběrová souprava tyčinek Aptima pro vzorky vaginálních výtěrů	301162
Souprava pro odběr stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Odběrová souprava tyčinek Aptima Unisex pro vzorky endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské močové trubice	301041
Odběrová souprava Aptima pro vzorky moči mužů a žen	301040
Přepravní zkumavky Aptima pro vzorky moči mužů a žen	105575
Bělidlo, 5 % až 7 % (0,7 M až 1,0 M) roztok chlornanu sodného	—
Voda pro systém Tigris DTS <i>specifikace viz Návod k obsluze systému Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)</i>	—
Rukavice na jedno použití ok	—
Kalibrační standard SysCheck	301078
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy s 100 testy <i>Rekonstituční roztoky pro amplifikační a enzymatické reagensie a reagensie sondy CL0041 (100 uzávěrů)</i> <i>TCR a selekční reagensie 501604 (100 uzávěrů)</i>	—

Volitelné materiály

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

Testovací postup systému Tigris DTS

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

A. Příprava pracovního místa

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

B. Rekonstituce reagentů a příprava nové soupravy

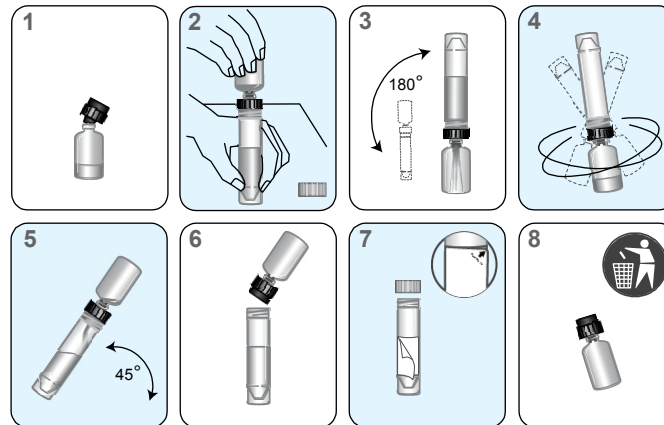
Poznámka: Rekonstituce reagentů se má provádět před zahájením jakékoliv práce na systému Tigris DTS System.

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

- U lahvíček pro 100 testů zaznamenejte iniciály obsluhy a datum rekonstituce přímo na štítku (viz Obrázek 3).

k. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 2, krok 8).

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



Obrázek 2. Rekonstituční proces v systému Tigris DTS

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

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

C. Příprava reagensů (pro dříve rekonstituované reagensie)

1. Dříve rekonstituované amplifikační GC reagensie, enzymatické reagensie a reagensie GC sondy musí před zahájením testu dosáhnout pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
2. Pokud rekonstituovaná reagensie sondy GC obsahuje precipitát, který se při pokojové teplotě nevrací do roztoku, zahřívajte uzavřenou lahvičku při teplotě, která nepřekročí 62 °C, po dobu 1 až 2 minut. Po tomto zahřívacím kroku může být reagensie sondy GC použita dokonce i v případě, že v ní zůstává zbytek precipitátu. Před založením do systému promíchejte reagensii sondy GC převrácením a dávejte pozor na to, aby nevznikla pěna.
3. Každou reagensii před založením do systému důkladně promíchejte jemným převrácením. Při převrácení reagensů zabraňte vzniku pěny.

4. Lahve s reagensii nedoplňujte. Systém Tigris DTS rozpozná lahve, které byly doplněny, a zamítne je.

D. Manipulace se vzorkem

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

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

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

E. Příprava systému

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

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. Pro správnou funkci se softwarem testu Aptima pro systém Tigris DTS jsou nezbytné přední a koncové kontroly. Pozitivní kontrola CT/negativní kontrola GC musí být v první pozici a předposlední pozici pracovního seznamu. Tento štítek kontroly je růžový. Text na štítku je „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“. Pozitivní kontrola GC/negativní kontrola CT musí být v druhé pozici a poslední pozici pracovního seznamu. Tento štítek kontroly je modrozelený. Text na štítku je „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“.
2. Každá kontrolní zkumavka Aptima může být testována jednou. Pokud se pokusíte-li se ze zkumavky pipetovat vícekrát, může to způsobit chyby v důsledku nedostatečného objemu.

B. Teplota

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

C. Prášek na rukavice

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

D. Protokol monitorování kontaminace laboratoře pro systém Tigris DTS

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

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

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

Pokud jsou výsledky GC pozitivní nebo nejednoznačné, přečtěte si část *Interpretace testu - Kontrola kvality / Výsledky pacienta*. Kde jsou uvedeny další informace o monitorování kontaminace specifické pro systém Tigris DTS, viz *Návod k obsluze systému Tigris DTS (Tigris DTS System Operator's Manual)*.

Systém Panther

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

Dodávané materiály a reagentie

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

Souprava testu Aptima Neisseria gonorrhoeae, 100 testů (2 krabice a 1 souprava kontrol)
(kat. č. 302927)

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

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

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

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

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

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

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

Potřebný materiál, který se dodává zvlášť

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

	<u>Kat. č.</u>
Systém Panther	303095
Souprava kapalin pro test Aptima <i>(Promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapalinu a olejová reagentie Aptima)</i>	303014 (1 000 testů)
Souprava Aptima Auto Detect	303013 (1 000 testů)
Jednotky pro více zkumavek (Multi-tube Units - MTU)	104772-02
Souprava odpadního vaku Panther	902731
Kryt odpadní nádoby Panther nebo souprava pro cykly Panther <i>obsahuje jednotky MTU, odpadní vaky, kryty odpadních nádob, kapaliny pro test a roztoky Auto Detect</i>	303096 (5 000 testů)
Špičky, 1 000 µL, vodivé, detekující kapalinu	10612513 (Tecan)
Souprava Aptima pro přenos vzorků <i>pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt</i>	301154C
Odběrová souprava tyčinek Aptima pro vzorky vaginálních výtěrů	301162
Souprava pro odběr stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Odběrová souprava tyčinek Aptima Unisex pro vzorky endocervikálních výtěrů a výtěrů z mužské močové trubice	301041
Odběrová souprava Aptima pro vzorky moči mužů a žen	301040
Přepravní zkumavky Aptima pro vzorky moči mužů a žen	105575
Bělidlo, 5 % až 7 % (0,7 M až 1,0 M) roztok chlornanu sodného	—
Rukavice na jedno použití ok	—
Kalibrační standard SysCheck	301078
Propichovací uzávěry Aptima	105668

Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy s 100 testy	—
Rekonstituční roztoky pro amplifikační a enzymatické reagensy a reagensy sondy	CL0041 (100 uzávěrů)
TCR a selekční reagensy	501604 (100 uzávěrů)

Volitelné materiály

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

Testovací postup systému Panther

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

A. Příprava pracovního místa

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

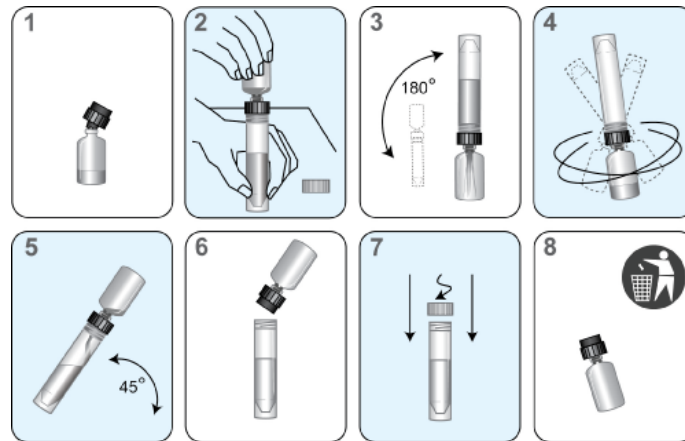
B. Rekonstrukce reagensů a příprava nové soupravy

Poznámka: Rekonstrukce reagensů se má provádět před zahájením jakékoliv práce na systému Panther.

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

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

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



Obrázek 3. Rekonstituční proces v systému Panther

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

Poznámka: Před založením do systému důkladně promíchejte amplifikační reagenie GC, enzymatické a selekční reagenie GC a reagenie sondy GC jemným převrácením. Při převrácení reagensů zabraňte vzniku pěny.

C. Příprava reagensí (pro dříve rekonstituované reagensie)

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

D. Manipulace se vzorkem

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

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

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

E. Příprava systému

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

Poznámky k postupu

A. Kontroly

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

B. Teplota

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

C. Prášek na rukavice

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

D. Protokol monitorování kontaminace laboratoře pro systém Panther

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

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

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

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

Interpretace testu - Kontrola kvality / Výsledky pacienta

A. Interpretace testu

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

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

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

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

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

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

B. Výsledky kontroly kvality a přijatelnost

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

Pozitivní kontroly musí produkovat následující výsledky testu:

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

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

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

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

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

C. Kontrola přípravy vzorku (volitelné)

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

D. Výsledky testu pacienta

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

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

b. Opakujte test výsledků

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

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

Poznámky

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

Omezení

- A. Použití tohoto testu je omezeno na personál, který byl proškolen v takových postupech. Pokud nedodržíte pokyny v této příbalové informaci, může to způsobit chybné výsledky.
- B. Účinky použití tamponu, výplachů pochvy a proměnných při odběru vzorku nebyly hodnoceny s ohledem na jejich vliv na detekci GC.
- C. Přítomnost hlenu v endocervikálních vzorcích neinterferuje s detekcí GC pomocí testu Aptima GC. Pro zajištění správného odběru endocervikálního vzorku je však třeba nadbytečný hlen odstranit.
- D. Odběr moči, vaginálního stěru a tekutého vzorku Pap v roztoku PreservCyt není určen jako náhrada za vyšetření hrdla děložního nebo za endocervikální vzorky při diagnostice urogenitálních infekcí žen. Pacientky mohou trpět cervicitidou, uretritidou, infekcemi močových cest nebo vaginálními infekcemi v důsledku jiných příčin nebo současných infekcí způsobených jinými činiteli.
- E. Test Aptima GC není určen pro hodnocení podezření z pohlavního zneužití nebo pro jiné medicínsko-právní indikace. Pro ty pacienty, u nichž mohou mít falešně pozitivní výsledky nežádoucí psychosociální vliv, Středisko pro kontrolu a prevenci nemocí CDC doporučuje nové testování alternativní metodou (1).
- F. Spolehlivé výsledky závisí na adekvátním odběru vzorku. Vzhledem k tomu, že systém přepravy používaný v tomto testu neumožňuje mikroskopické hodnocení adekvátnosti vzorku, je třeba vyškolení lékařů v technice řádného odběru vzorků. Viz příbalová informace příslušné odběrové soupravy pro vzorky Aptima.
- G. Terapeutické selhání nebo úspěch testem Aptima GC není možné určit, protože nukleová kyselina může přetrvávat po příslušné antimikrobiální terapii.
- H. Výsledky testu Aptima GC musí být interpretovány ve spojení s jinými laboratorními a klinickými údaji, které jsou dostupné lékařům.
- I. Negativní výsledek nevylučuje možnost infekce, protože výsledky jsou závislé na adekvátním odběru vzorku. Výsledky testu mohou být ovlivněny nesprávným odběrem vzorku, technickou chybou, záměnou vzorků nebo hladinou cíle pod mezí detekce testu.
- J. Test Aptima GC podává kvalitativní výsledky. Proto není možná korelace mezi velikostí signálu pozitivního testu a počtem organismů ve vzorku.
- K. Pro klinické studie vzorků vaginálního výtěru, endocervikálního výtěru, výtěru z mužské močové trubice a vzorků moči je výkonnost pro detekci GC odvozena z populací s vysokou prevalencí. Pozitivní výsledky u populací s nízkou prevalencí musí být pozorně interpretovány s vědomím, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků může být vyšší než správných pozitivních výsledků.
- L. Pro klinické studie tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt je výkonnost testu Aptima GC pro detekci GC primárně odvozena z populací s nízkou prevalencí. Nicméně pozitivní výsledky u populací s nízkou prevalencí musí být pozorně interpretovány s vědomím, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků může být vyšší, než správných pozitivních výsledků.

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

Výsledky klinické studie

Výkonnostní charakteristiky testu Aptima GC byly stanoveny ve dvou klinických hodnoceních vedených v Severní Americe. První klinické hodnocení stanovilo citlivost, specifitu a prediktivní hodnoty testu Aptima GC ze zdravotníkem odebraných endocervikálních, vaginálních a mužských uretrálních výtěrů, pacientkou odebraných vaginálních výtěrů a ze vzorků moči mužů a žen. První klinické hodnocení také hodnotilo preciznost testu Aptima GC, pokud byl prováděn v souladu s pokyny NCCLS (13). Druhé klinické hodnocení stanovilo citlivost, specifitu a prediktivní hodnoty testu Aptima GC v přepravním médiu PreservCyt (což je komponenta systému ThinPrep 2000). Tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byly také hodnoceny z hlediska preciznosti testu Aptima GC v rámci laboratoře.

Očekávané hodnoty systémů DTS

Prevalence

Prevalence GC u populací pacientů závisí na rizikových faktorech jako například věk, pohlaví, přítomnost příznaků, typ ambulance a testovací metoda. Shrnutí prevalence GC v Severní Americe podle typu vzorku, zjištěné v testování pomocí Aptima GC, se uvádí v tabulkách 1 a 1a, a to pro dvě klinická hodnocení. Popis výkonnosti klinických vzorků viz část *Klinická výkonnost systémů DTS*, kde jsou obsaženy popisy *Klinická studie vzorků endocervikálních výtěrů, mužských uretrálních výtěrů, vaginálních výtěrů a vzorků moči a vzorků moči a Klinická studie tekutého Pap vzorku v roztoku PreservCyt*.

Tabulka 1: Prevalence *N. gonorrhoeae* stanovená pomocí výsledků testu Aptima GC, dle klinického centra a celkově

Centrum	% (počet pozitivních/počet testovaných)											
	MS		MU		FS		FU		PVS		CVS	
1	21,4	(54/252)	21,4	(54/252)	6,1	(14/229)	5,7	(13/230)	6,4	(14/219)	6,1	(14/230)
2	26,5	(93/351)	20,1	(71/354)	16,1	(32/199)	15,0	(30/200)	16,2	(32/198)	16,6	(33/199)
3	0,0	(0/4)	0,0	(0/4)	4,4	(5/114)	3,5	(4/113)	3,6	(4/111)	3,5	(4/113)
4	N/A		N/A		2,3	(6/266)	1,9	(5/270)	2,2	(6/267)	3,0	(8/269)
5	5,5	(11/200)	5,5	(11/200)	1,5	(3/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)
6	14,5	(44/304)	13,4	(41/305)	8,2	(24/294)	5,7	(17/296)	8,3	(24/290)	7,5	(22/295)
7	5,8	(12/207)	5,8	(12/207)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)
8	N/A		N/A		2,0	(1/49)	2,0	(1/49)	2,1	(1/48)	2,0	(1/51)
Vše	16,2	(214/1 318)	14,3	(189/1 322)	5,9	(85/1 452)	4,9	(72/1 459)	5,8	(83/1 434)	5,8	(84/1 458)

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

Tabulka 1a: Prevalence *N. gonorrhoeae* stanovená pomocí výsledků testu Aptima GC s použitím tekutých vzorků Pap v roztoku PreservCyt, dle klinického centra a celkově

Centrum	% (počet pozitivních/počet testovaných)	
1	5,0	(5/100)
2	0,8	(1/124)
3	0,8	(4/475)
4	1,4	(4/287)
5	0,0	(0/297)
6	0,5	(2/364)
Vše	1,0	(16/1 647)

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

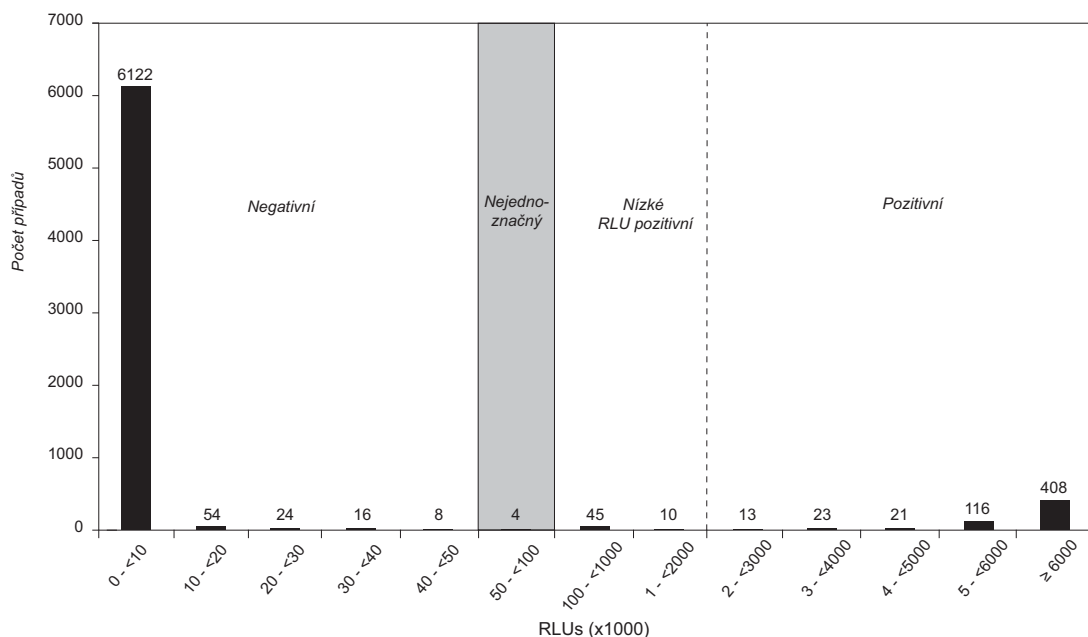
Odhadnuté pozitivní a negativní prediktivní hodnoty (PPH a NPH) pro různou hypotetickou míru prevalence při použití testu Aptima GC jsou uvedeny v tabulce 2. Tyto výpočty jsou založeny na hypotetické míře prevalence a celkové citlivosti a specifitě odhadnuté z infekčního stavu pacienta. Celková citlivost a specifita pro GC byla 97,6 % resp. 99,3 %, (tabulce 2). Aktuální hodnoty PPH a NPH zdravotníkem odebraných endocervikálních, vaginálních a mužských uretrálních výtěrů, pacientkou odebraných vaginálních výtěrů a vzorků moči mužů a žen jsou uvedeny v tabulce 6, pro každé klinické centrum a celkově. Aktuální hodnoty PPH a NPH pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt jsou uvedeny v tabulce 6a.

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

Hypotetická míra prevalence (%)	Citlivost (%)	Specifita (%)	PPH (%)	NPH (%)
1	97,6	99,3	58,7	100,0
2	97,6	99,3	74,1	100,0
5	97,6	99,3	88,1	99,9
10	97,6	99,3	94,0	99,7
15	97,6	99,3	96,1	99,6
20	97,6	99,3	97,2	99,4
25	97,6	99,3	97,9	99,2
30	97,6	99,3	98,4	99,0

Distribuce RLU v testu Aptima GC

Obrázek 4 ilustruje distribuci RLU pro test Aptima GC pro následující vzorky testované v rámci klinické studie: u symptomatických pacientů se jednalo o zdravotníkem odebrané endocervikální, vaginální a mužské uretrální výtěry a pacienty odebrané vzorky moči žen a mužů. Od asymptomatických pacientů byly získány zdravotníkem odebrané endocervikální a vaginální výtěry a pacientkou odebrané vaginální výtěry a vzorky moči mužů a žen. Tabulce 3 uvádí distribuci RLU v souhrnu pozitivních výsledků a v souhrnu negativních výsledků, a počet falešně pozitivních a falešně negativních výsledků u těchto typů vzorků ve vztahu k infekčnímu stavu pacienta. U některých typů vzorků existuje trend ke zvýšenému podílu správných pozitivních výsledků se zvyšujícími se hodnotami RLU.



Obrázek 4. Frekvence distribuce RLU pro test Aptima GC

Tabulka 3: Distribuce RLU v testu Aptima GC

	RLU (x1 000)												
	0 - <10	10 - <20	20 - <30	30 - <40	40 - <50	50 - <100	100 - <1 000	1 000 - <2 000	2 000 - <3 000	3 000 - <4 000	4 000 - <5 000	5 000 - <6 000	≥ 6 000
Celkem pozitivní						-	45	10	13	23	21	116	408
Celkem falešně pozitivní						-	35	6	2	4	0	3	0
CVS						1	5	3	0	1	0	2	0
PVS						0	2	0	0	1	0	1	0
FS						2	12	1	0	0	0	0	0
MS						1	9	0	1	0	0	0	0
FU						0	2	0	0	1	0	0	0
MU						0	5	2	1	1	0	0	0
Celkem negativní	6122	54	24	16	8	-							
Celkem falešně negativní	7	2	1	2	1	-							
CVS	2	0	0	0	0	-							
PVS	0	0	0	0	0	-							
FS	0	0	0	1	1	-							
MS	0	1	0	0	0	-							
FU	3	1	1	1	0	-							
MU	2	0	0	0	0	-							

CVS = zdravotníkem odebraný vaginální výtěr; **PVS** = pacientkou odebraný vaginální výtěr, pouze od asymptomatických pacientek; **FS** = endocervikální výtěr žen; **MS** = mužský uretrální výtěr pouze od symptomatických pacientů; **FU** = moč žen; **MU** = moč mužů.

Stínovaný sloupec obsahuje nejednoznačnou oblast.

Klinická výkonnost systémů DTS

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

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

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

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

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

Pro výpočet citlivosti a specifity bylo použito celkem 7 653 výsledků z testu Aptima GC. Citlivost a specifita pro GC dle pohlaví, typu vzorku a stavu příznaků se nachází v tabulce 4. Tabulce 6 uvádí citlivost, specifitu a prediktivní hodnoty testu Aptima GC ve srovnání s infekčním stavem pacienta pro každé klinické centrum a celkově. Tabulky 7a - 7e shrnují počet výsledků od symptomatických a asymptomatických jedinců označených za infikované nebo neinfikované GC podle algoritmu infekčního stavu pacienta.

Z celkového počtu 2 787 registrovaných účastníků mělo 15 jedinců neznámý infekční stav GC. Pacienti byli označeni neznámým infekčním stavem pacienta, pokud chybějící výsledky bránily jednoznačnému stanovení infekčního stavu. Výsledky těchto pacientů nebyly zařazeny do žádného výpočtu výkonnosti. Mezi 7 704 výsledky testu Aptima GC bylo 22 vzorků (0,29 %), které v prvním testu podaly neplatný nebo nejednoznačný výsledek. Po opakovaném testu 4 zůstaly nejednoznačné a byly z analýzy vyloučeny. Zbývajících 18 vzorků podalo v opakovaném testu platné výsledky, a proto byly zahrnuty do výpočtu klinické výkonnosti.

Tabulka 4: Citlivost a specifická testu Aptima GC ve vztahu k infekčnímu stavu pacienta podle stavu symptomů a celkově pro následující vzorky: mužský uretrální výtěr, moč mužů, endocervikální výtěr, moč žen, vaginální výtěr odebraný asymptomatickou pacientkou a vaginální výtěr odebraný zdravotníkem

Vzorek	Stav příznaků	N	TP	FP	TN	FN	Citlivost (95 % interval spolehlivosti)		Specifická (95 % interval spolehlivosti)		
Muž	Výtěr	Sympt.	575	171	10 ^a	393	1	99,4	(96,8 - 100)	97,5	(95,5 - 98,8)
	Moč	Sympt.	576	171	4 ^b	400	1	99,4	(96,8 - 100)	99,0	(97,5 - 99,7)
		Asympt.	745	9	5 ^c	730	1	90,0	(55,5 - 99,7)	99,3	(98,4 - 99,8)
		Vše	1 321	180	9 ^d	1 130	2	98,9	(96,1 - 99,9)	99,2	(98,5 - 99,6)
Žena	Výtěr	Sympt.	805	52	8 ^e	744	1	98,1	(89,9 - 100)	98,9	(97,9 - 99,5)
		Asympt.	635	20	5 ^f	609	1	95,2	(76,2 - 99,9)	99,2	(98,1 - 99,7)
		Vše	1 440	72	13 ^g	1 353	2	97,3	(90,6 - 99,7)	99,0	(98,4 - 99,5)
	Moč	Sympt.	810	48	2 ^h	755	5	90,6	(79,3 - 96,9)	99,7	(99,0 - 100)
		Asympt.	639	21	1 ⁱ	616	1	95,5	(77,2 - 99,9)	99,8	(99,1 - 100)
		Vše	1 449	69	3 ^j	1 371	6	92,0	(83,4 - 97,0)	99,8	(99,4 - 100)
Odebraný pacientkou	Vaginální výtěr	Asympt.	629	21	4 ^k	604	0	100	(83,9 - 100)	99,3	(98,3 - 99,8)
Odebraný zdravotníkem	Vaginální výtěr	Sympt.	809	52	7 ^m	749	1	98,1	(89,9 - 100)	99,1	(98,1 - 99,6)
		Asympt.	637	21	4 ⁿ	611	1	95,5	(77,2 - 99,9)	99,3	(98,3 - 99,8)
		Vše	1 446	73	11 ^o	1 360	2	97,3	(90,7 - 99,7)	99,2	(98,6 - 99,6)

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

Výsledky testu Aptima Combo 2: počet pozitivních/počet testovaných vzorků a: 2/10 b: 1/4 c: 1/5 d: 2/9 e: 5/8 f: 2/5 g: 7/13 h: 1/2 i: 1/1 j: 2/3 k: 3/4 l: 8/11 m: 6/7 n: 3/4 o: 9/11.

Klinická studie tekutého Pap vzorku v roztoku PreservCyt

Byla provedena prospektivní multicentrická klinická studie za účelem vyhodnocení použití přepravního roztoku PreservCyt (součást systému ThinPrep 2000) jako alternativního média pro gynekologické vzorky k detekci *N. gonorrhoeae* testem Aptima GC. V klinické studii bylo hodnoceno tisíc šest set čtyřicet sedm (1 647) symptomatických a asymptomatických žen, které se dostavily na gynekologicko-porodnickou ambulanci, ambulanci pro plánování rodičovství, ambulanci pro veřejné zdraví, ženskou ambulanci a ambulanci pro pohlavně přenosné choroby. Z těchto jedinců bylo 1 288 asymptomatických a 359 symptomatických (tabulce 7e). Pacienti byli zařazeni z center s prevalencí GC od 0,0 % do 5,0 % (tabulce 6a).

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

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

Citlivost a specifita testu Aptima GC pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byla vypočtena porovnáním výsledků s infekčním stavem pacienta. Algoritmus zahrnoval výsledky testů Aptima Combo 2 a Aptima GC z endocervikálních výtěrů. Pro klasifikaci pacientky jako infikované bylo požadováno, aby oba referenční testy NAAT byly pozitivní. Pro klasifikaci pacientky jako neinfikované bylo požadováno, aby alespoň jeden referenční test NAAT byl negativní. Jediný nejednoznačný výsledek, získaný z referenčního testu NAAT, byl považován pro účely výpočtu výkonnosti za nesouhlasný s výzkumným testem, a proto byl infekční stav kategorizován jako neinfikovaná (n=1). Tabulce 7e shrnuje frekvenci výsledků testu pro endocervikální výtěry testované pomocí testů Aptima Combo 2 a Aptima GC.

Tabulce 5a uvádí citlivost a specifitu pro test Aptima GC podle stavu příznaků a celkově. Celková citlivost byla 92,3 % (12/13). U symptomatických a asymptomatických jedinců byla citlivost 100 % (7/7) resp. 83,3 % (5/6). Celková specifita byla 99,8 % (1 630/1 634). U symptomatických a asymptomatických jedinců byla specifita 99,4% (350/352), resp. 99,8 % (1 280/1 282).

Tabulce 6a uvádí citlivost a specifitu pro test Aptima GC podle místa odběru vzorku a celkově. Citlivost byla v rozsahu od 80,0 % to 100 %. Specifita byla v rozsahu od 99,0 % do 100 %.

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

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

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

Příznak	Výsledek Aptima GC v roztoku PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Citlivost (%) (95 % interval spolehlivosti)	Specifická (%) (95 % interval spolehlivosti)
Sympt.	Pozitivní	7	0	0	2	100 (7/7) (59,0 – 100)	99,4 (350/352) (98,0 – 99,9)
	Negativní	0	0	0	350		
	Celkem	7	0	0	352		
Asympt.	Pozitivní	5	0	1 ¹	1	83,3 (5/6) (35,9 – 99,6)	99,8 (1 280/1 282) (99,4 – 100)
	Negativní	1	0	5	1 275		
	Celkem	6	0	6	1 276		
Vše	Pozitivní	12	0	1	3	92,3 (12/13) (64,0 – 99,8)	99,8 (1 630/1 634) (99,4 – 99,9)
	Negativní	1	0	5	1 625		
	Celkem	13	0	6	1 628		

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

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

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

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

¹Jeden vzorek měl nesouhlasný výsledek: Nejednoznačný výsledek endocervikálního výtěru v testu Aptima Combo 2/ pozitivní výsledek vzorku endocervikálního výtěru v testu Aptima GC.

Tabulka 6: Citlivost, specifická a prediktivní hodnoty testu Aptima GC ve vztahu k infekčnímu stavu pacienta podle klinického centra a celkově pro následující vzorky: mužský uretrální výtěr, moč mužů, endocervikální výtěr, moč žen, vaginální výtěr odebraný asymptomatickou pacientkou a vaginální výtěr odebraný zdravotníkem

Vzorek	Centrum	N	TP	FP	TN	FN	Pre-valence (%)	Citlivost (95 % interval spolehlivosti)	Specifická (95 % interval spolehlivosti)	PPH (%)	NPH (%)
Výtěr	1	145	49	0	96	0	33,8	100 (92,7 - 100)	100 (96,2 - 100)	100	100
	2	177	66	8	102	1	37,9	98,5 (92,0 - 100)	92,7 (86,2 - 96,8)	89,2	99,0
	3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	5	49	7	1	41	0	14,3	100 (59,0 - 100)	97,6 (87,4 - 99,9)	87,5	100
	6	150	37	1	112	0	24,7	100 (90,5 - 100)	99,1 (95,2 - 100)	97,4	100
	7	54	12	0	42	0	22,2	100 (73,5 - 100)	100 (91,6 - 100)	100	100
	8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	Vše	575	171	10	393	1	29,9	99,4 (96,8 - 100)	97,5 (95,5 - 98,8)	94,5	99,7
Muž	1	252	53	1	198	0	21,0	100 (93,3 - 100)	99,5 (97,2 - 100)	98,1	100
	2	353	68	3	280	2	19,8	97,1 (90,1 - 99,7)	98,9 (96,9 - 99,8)	95,8	99,3
	3	4	0	0	4	0	0,0	N/A	100 (39,8 - 100)	N/A	100
	4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	5	200	8	3	189	0	4,0	100 (63,1 - 100)	98,4 (95,5 - 99,7)	72,7	100
	6	305	39	2	264	0	12,8	100 (91,0 - 100)	99,2 (97,3 - 99,9)	95,1	100
	7	207	12	0	195	0	5,8	100 (73,5 - 100)	100 (98,1 - 100)	100	100
	8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	Moč	1 321	180	9	1 130	2	13,8	98,9 (96,1 - 99,9)	99,2 (98,5 - 99,6)	95,2	99,8

Tabulka 6: Citlivost, specificita a prediktivní hodnoty testu Aptima GC ve vztahu k infekčnímu stavu pacienta podle klinického centra a celkově pro následující vzorky: mužský uretrální výtěr, moč mužů, endocervikální výtěr, moč žen, vaginální výtěr odebraný asymptomatickou pacientkou a vaginální výtěr odebraný zdravotníkem (pokračování)

Vzorek	Centrum	N	TP	FP	TN	FN	Prevalence (%)	Citlivost (95 % interval spolehlivosti)	Specificita (95 % interval spolehlivosti)	PPH (%)	NPH (%)	
Výtěr	1	226	12	2	212	0	5,3	100 (73,5 - 100)	99,1 (96,7 - 99,9)	85,7	100	
	2	197	29	3	164	1	15,2	96,7 (82,8 - 99,9)	98,2 (94,8 - 99,6)	90,6	99,4	
	3	114	4	1	109	0	3,5	100 (39,8 - 100)	99,1 (95,0 - 100)	80,0	100	
	4	260	5	1	254	0	1,9	100 (47,8 - 100)	99,6 (97,8 - 100)	83,3	100	
	5	199	2	1	196	0	1,0	100 (15,8 - 100)	99,5 (97,2 - 100)	66,7	100	
	6	294	19	5	269	1	6,8	95,0 (75,1 - 99,9)	98,2 (95,8 - 99,4)	79,2	99,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0	N/A	100 (96,4 - 100)	N/A	100	
	8	48	1	0	47	0	2,1	100 (2,5 - 100)	100 (92,5 - 100)	100	100	
	Vše	1 440	72	13	1 353	2	5,1	97,3	(90,6 - 99,7)	99,0	(98,4 - 99,5)	84,7
Žena	1	227	11	2	213	1	5,3	91,7 (61,5 - 99,8)	99,1 (96,7 - 99,9)	84,6	99,5	
	2	198	30	0	167	1	15,7	96,8 (83,3 - 99,9)	100 (97,8 - 100)	100	99,4	
	3	113	4	0	109	0	3,5	100 (39,8 - 100)	100 (96,7 - 100)	100	100	
	4	265	5	0	260	0	1,9	100 (47,8 - 100)	100 (98,6 - 100)	100	100	
	5	199	2	0	197	0	1,0	100 (15,8 - 100)	100 (98,1 - 100)	100	100	
	6	296	16	1	275	4	6,8	80,0 (56,3 - 94,3)	99,6 (98,0 - 100)	94,1	98,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0	N/A	100 (96,4 - 100)	N/A	100	
	8	49	1	0	48	0	2,0	100 (2,5 - 100)	100 (92,6 - 100)	100	100	
	Vše	1 449	69	3	1 371	6	5,2	92,0	(83,4 - 97,0)	99,8	(99,4 - 100)	95,8
Odebraný pacientkou	Vaginální výtěr (asympt.)	1	70	5	1	64	0	7,1	100 (47,8 - 100)	98,5 (91,7 - 100)	83,3	100
	2	46	7	1	38	0	15,2	100 (59,0 - 100)	97,4 (86,5 - 99,9)	87,5	100	
	3	45	2	0	43	0	4,4	100 (15,8 - 100)	100 (91,8 - 100)	100	100	
	4	152	1	0	151	0	0,7	100 (2,5 - 100)	100 (97,6 - 100)	100	100	
	5	130	1	0	129	0	0,8	100 (2,5 - 100)	100 (97,2 - 100)	100	100	
	6	75	5	2	68	0	6,7	100 (47,8 - 100)	97,1 (90,1 - 99,7)	71,4	100	
	7	68	0	0	68	0	0,0	N/A	100 (94,7 - 100)	N/A	100	
	8	43	0	0	43	0	0,0	N/A	100 (91,8 - 100)	N/A	100	
	Vše	629	21	4	604	0	3,3	100	(83,9 - 100)	99,3	(98,3 - 99,8)	84,0
Odebraný zdravotníkem	Vaginální výtěr	1	227	12	2	213	0	5,3	100 (73,5 - 100)	99,1 (96,7 - 99,9)	85,7	100
	2	197	30	3	163	1	15,7	96,8 (83,3 - 99,9)	98,2 (94,8 - 99,6)	90,9	99,4	
	3	113	4	0	109	0	3,5	100 (39,8 - 100)	100 (96,7 - 100)	100	100	
	4	263	5	3	255	0	1,9	100 (47,8 - 100)	98,8 (96,6 - 99,8)	62,5	100	
	5	199	2	0	197	0	1,0	100 (15,8 - 100)	100 (98,1 - 100)	100	100	
	6	295	19	3	272	1	6,8	95,0 (75,1 - 99,9)	98,9 (96,8 - 99,8)	86,4	99,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0	N/A	100 (96,4 - 100)	N/A	100	
	8	50	1	0	49	0	2,0	100 (2,5 - 100)	100 (92,7 - 100)	100	100	
	Vše	1 446	73	11	1 360	2	5,2	97,3	(90,7 - 99,7)	99,2	(98,6 - 99,6)	86,9

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

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

Centrum	Výsledek Aptima GC v roztoku PreservCyt	Výsledek Aptima Combo 2				Prevalence (%)	Citlivost (%) (95 % interval spolehlivosti)	Specifická (%) (95 % interval spolehlivosti)	PPH (%)	NPH (%)
		+/+	+/-	-/+	-/-					
1	Pozitivní	5	0	0	0	5,0	100 (5/5) (47,8 – 100)	100 (95/95) (96,2 – 100)	100	100
	Negativní	0	0	0	95					
	Celkem	5	0	0	95					
2	Pozitivní	1	0	0	0	0,8	100 (1/1) (2,5 – 100)	100 (123/123) (97,0 – 100)	100	100
	Negativní	0	0	0	123					
	Celkem	1	0	0	123					
3	Pozitivní	4	0	0	0	1,1	80,0 (4/5) (28,4 – 99,5)	100 (470/470) (99,2 – 100)	100	99,8
	Negativní	1	0	0	470					
	Celkem	5	0	0	470					
4	Pozitivní	1	0	0	3	0,3	100 (1/1) (2,5 – 100)	99,0 (283/286) (97,0 – 99,8)	25,0	100
	Negativní	0	0	3	280					
	Celkem	1	0	3	283					
5	Pozitivní	0	0	0	0	0,0	N/A	100 (297/297) (98,8 – 100)	N/A	100
	Negativní	0	0	0	297					
	Celkem	0	0	0	297					
6	Pozitivní	1	0	1 ¹	0	0,3	100 (1/1) (2,5 – 100)	99,7 (362/363) (98,5 – 100)	50,0	100
	Negativní	0	0	2	360					
	Celkem	1	0	3	360					
Vše	Pozitivní	12	0	1	3	0,8	92,3 (12/13) (64,0 – 99,8)	99,8 (1 630/1 634) (99,4 – 99,9)	75,0	99,9
	Negativní	1	0	5	1 625					
	Celkem	13	0	6	1 628					

N/A = Neuplatňuje se.

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

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

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

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

¹Jeden vzorek měl nesouhlasný výsledek: Nejednoznačný výsledek endocervikálního výtěru v testu Aptima Combo 2/pozitivní výsledek vzorku endocervikálního výtěru v testu Aptima GC.

Tabulka 7a: Výsledky vzorků mužských uretrálních výtěrů (sympt.) od jedinců označených jako infikovaní i neinfikovaní *N. gonorrhoeae*, podle infekčního stavu pacienta

Infekční stav pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC	Celkem
	MS	MU	MS	MU	MS	
Infikov.	+	+	+	+	+	164
Infikov.	+	+	+	+	-	1
Infikov.	+	+	+	-	+	3
Infikov.	+	+	=	+	+	1
Infikov.	+	-	+	+	+	2
Infikov.	+	-	+	-	+	1
Neinfikov.	+	-	-	-	+	2
Neinfikov.	+	-	-	-	-	1
Neinfikov.	-	+	-	-	+	1
Neinfikov.	-	-	+	-	-	1
Neinfikov.	-	-	-	+	-	2
Neinfikov.	-	-	-	-	+	3
Neinfikov.	-	-	-	-	+	2
Neinfikov.	-	-	-	-	-	386
Neinfikov.	-	-	-	-	=	1
Neinfikov.	-	-	-	N/A	-	1
Neinfikov.	-	-	-	=	-	1
Neinfikov.	-	-	=	-	-	1
Neinfikov.	=	-	-	-	+	2
Celkem						576

N/A = vzorek nebyl získán nebo není k dispozici pro testování. Symbol rovná se (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitý výsledek při opakování testu. **MS** = výtěr z mužské uretry (sympt.); **MU** = moč mužů.

Tabulka 7b: Výsledky vzorků moči mužů od jedinců označených jako infikovaní i neinfikovaní *N. gonorrhoeae*, podle infekčního stavu pacienta

Infekční stav pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC	Stav příznaků		Celkem
	MS	MU	MS	MU	MU	Sympt.	Asympt.	
Infikov.	+	+	+	+	+	164	8	172
Infikov.	+	+	+	+	+	1	0	1
Infikov.	+	+	+	-	+	3	1	4
Infikov.	+	+	=	+	+	1	0	1
Infikov.	+	-	+	+	+	2	0	2
Infikov.	+	-	+	-	-	1	1	2
Neinfikov.	+	+	-	-	+	0	1	1
Neinfikov.	+	-	-	-	-	2	13	15
Neinfikov.	+	-	-	-	-	1	0	1
Neinfikov.	-	+	-	-	+	1	0	1
Neinfikov.	-	+	-	-	-	0	1	1
Neinfikov.	-	-	+	-	-	1	1	2
Neinfikov.	-	-	-	+	-	2	2	4
Neinfikov.	-	-	-	-	+	3	1	4
Neinfikov.	-	-	-	-	-	2	1	3
Neinfikov.	-	-	-	-	+	0	3	3
Neinfikov.	-	-	-	-	-	386	691	1 077
Neinfikov.	-	-	-	-	-	1	2	3
Neinfikov.	-	-	-	N/A	-	1	4	5
Neinfikov.	-	-	-	=	-	1	4	5
Neinfikov.	-	-	=	-	-	1	1	2
Neinfikov.	-	=	-	-	-	0	1	1
Neinfikov.	N/A	-	-	-	-	0	1	1
Neinfikov.	=	-	-	-	-	2	6	8
Neinfikov.	=	-	-	-	-	0	2	2
Celkem						576	745	1 321

Sympt. = symptomatictí; **Asympt.** = asymptomatictí. **N/A** = vzorek nebyl získán nebo není k dispozici pro testování. Symbol rovná se (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitý výsledek při opakování testu. **MS** = výtěr z mužské uretry; **MU** = moč mužů.

Tabulka 7c: Výsledky ženských endocervikálních vzorků a vzorků moči od jedinců označených jako infikovaní i neinfikovaní *N. gonorrhoeae*, podle infekčního stavu pacienta

Infekční stav pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC		Stav příznaků		Celkem
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Sympt.	Asympt.	
Infikov.	+	+	+	+	+	+	43	16	59
Infikov.	+	+	+	+	+	-	2	0	2
Infikov.	+	+	+	-	+	+	2	1	3
Infikov.	+	+	+	-	+	-	0	1	1
Infikov.	+	+	+	N/A	+	+	1	0	1
Infikov.	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infikov.	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infikov.	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infikov.	+	-	+	-	+	+	0	1	1
Infikov.	+	-	+	-	+	-	2	0	2
Infikov.	-	+	+	+	-	+	1	0	1
Infikov.	-	+	-	+	-	+	0	1	1
Infikov.	-	+	-	+	=	+	0	1	1
Infikov.	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Neinfikov.	+	-	-	-	+	-	4	1	5
Neinfikov.	+	-	-	-	-	-	1	0	1
Neinfikov.	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Neinfikov.	-	-	+	-	+	-	1	0	1
Neinfikov.	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Neinfikov.	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Neinfikov.	-	-	-	-	+	-	1	2	3
Neinfikov.	-	-	-	-	-	+	1	0	1
Neinfikov.	-	-	-	-	-	-	718	589	1 307
Neinfikov.	-	-	-	-	=	-	1	0	1
Neinfikov.	-	-	-	N/A	-	-	2	3	5
Neinfikov.	-	-	-	=	-	-	11	11	22
Neinfikov.	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Neinfikov.	-	N/A	-	-	-	N/A	1	1	2
Neinfikov.	N/A	-	-	-	N/A	-	5	4	9
Neinfikov.	=	-	-	-	+	-	1	1	2
Celkem							811	640	1 451

Sympt. = symptomatictí; **Asympt.** = asymptomatictí. **N/A** = vzorek nebyl získán nebo není k dispozici pro testování. Symbol rovná se (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitý výsledek při opakování testu. **FS** = ženské endocervikální výtěry; **FU** = moč žen.

Tabulka 7d: Výsledky vzorků vaginálních výtěrů od pacientek označených jako infikované i neinfikované *N. gonorrhoeae*, podle infekčního stavu pacienta

Infekční stav pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC		Stav příznaků		Celkem
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infikov.	+	+	+	+	+	+	43	15	58
Infikov.	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infikov.	+	+	+	+	-	-	1	0	1
Infikov.	+	+	+	+	N/A	+	0	1	1
Infikov.	+	+	+	-	+	+	2	2	4
Infikov.	+	+	+	N/A	+	+	1	0	1
Infikov.	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infikov.	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infikov.	+	-	+	+	+	+	1	0	1
Infikov.	+	-	+	-	+	+	2	1	3
Infikov.	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infikov.	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infikov.	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infikov.	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Neinfikov.	+	-	-	-	-	-	5	1	6
Neinfikov.	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Neinfikov.	-	-	+	-	+	+	1	0	1
Neinfikov.	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Neinfikov.	-	-	-	+	+	+	0	1	1
Neinfikov.	-	-	-	+	-	-	2	1	3
Neinfikov.	-	-	-	-	+	+	2	1	3
Neinfikov.	-	-	-	-	+	-	3	1	4
Neinfikov.	-	-	-	-	-	+	3	1	4
Neinfikov.	-	-	-	-	-	-	696	577	1 273
Neinfikov.	-	-	-	-	-	N/A	0	1	1
Neinfikov.	-	-	-	-	-	=	0	1	1
Neinfikov.	-	-	-	-	N/A	-	16	9	25
Neinfikov.	-	-	-	-	N/A	N/A	1	0	1
Neinfikov.	-	-	-	N/A	-	-	2	2	4
Neinfikov.	-	-	-	N/A	N/A	-	0	1	1
Neinfikov.	-	-	-	=	-	-	11	10	21
Neinfikov.	-	-	-	=	-	N/A	0	1	1
Neinfikov.	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Neinfikov.	-	N/A	-	-	-	-	0	1	1
Neinfikov.	-	N/A	-	-	N/A	N/A	1	0	1
Neinfikov.	N/A	-	-	-	-	-	5	4	9
Neinfikov.	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Celkem							811	640	1 451

Sympt. = symptomatické; **Asympt.** = asymptomatické. **N/A** = vzorek nebyl získán nebo není k dispozici pro testování. Symbol rovná se (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitý výsledek při opakování testu. **FS** = endocervikální výtěr žen; **FU** = moč žen; **PVS** = pacientkou odebraný vaginální výtěr; **CVS** = zdravotníkem odebraný vaginální výtěr.

Tabulka 7e: Výsledky infekčního stavu pacientů z klinické studie tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt pro *N. gonorrhoeae*

Infekční stav pacienta	Endocervikální výtěr		Stav příznaků	
	Test Aptima Combo 2	Test Aptima GC	Sympt.	Asympt.
Infikov.	Pozitivní	Pozitivní	7	6
Neinfikov.	Negativní	Negativní	352	1 276
Neinfikov.	Negativní	Pozitivní	0	5
Neinfikov.	Nejednoznačný	Pozitivní	0	1
Celkem			359	1 288

Distribuce RLU kontrol Aptima

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

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

Kontrola	Statistika	(RLU x1 000)	
		Klinická studie výtěrů a vzorků moči	Klinická studie tekutého Pap vzorku v roztoku PreservCyt
Pozitivní kontrola GC/negativní kontrola CT	N	193	218
	Průměr	5 048	4 561
	Směrodatná odchylka	1 071	1 295
	Maximum	6 765	6 791
	75. percentil	5 763	5 450
	Medián	5 175	4 859
	25. percentil	4 645	3 804
	Minimum	229	158
Pozitivní kontrola CT/negativní kontrola GC	N	193	218
	Průměr	2,15	2,60
	Směrodatná odchylka	2,20	2,80
	Maximum	20	29
	75. percentil	2	3
	Medián	2	2
	25. percentil	1	2
	Minimum	0	1

Studie preciznosti

Preciznost testu Aptima GC (tzn. reprodukovatelnost) byla hodnocena ve dvou externích klinických centrech a v Hologic. Preciznost testu Aptima GC byla hodnocena v rámci tří šarží souprav testu Aptima GC, tří klinických center, šesti operátorů a 108 cyklů testu Aptima GC. Dva operátoři v každém ze tří center zpracovali celkem šest cyklů testu Aptima GC s každou šarží soupravy testu, tedy celkem 36 testů na šarži soupravy testu. Každý cyklus obsahoval 12členný panel pro preciznost, který obsahoval 0 až 2 433 fg/test GC rRNA.

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

Tabulka 9: Údaje o preciznosti testu Aptima GC s použitím 12členného panelu pro preciznost, který obsahoval 0 až 2 433 fg/test GC rRNA

Koncentrace	N	Průměr RLU (x1 000)	% shoda	V rámci cyklu		Mezi centry		Mezi šaržemi		Mezi operátory		Mezi cykly	
				SO RLU (x1 000)	VK (%)	SO RLU (x1 000)	VK (%)	SO RLU (x1 000)	VK (%)	SO RLU (x1 000)	VK (%)	SO RLU (x1 000)	VK (%)
Neg (0 fg/mL)	540	11,7	99,8	233,3	N/A	0	N/A	0	N/A	4,3	N/A	0	N/A
Nízk. (608-625 fg/mL)	324	5574,4	99,7	617,2	11,1	189,2	3,4	518,1	9,3	311,3	5,6	527,4	9,5
Stř. (6 082 fg/mL)	108	6502,6	100	138,8	2,1	0	0,0	481,9	7,4	514,8	7,9	579,4	8,9
Vys. (12 500 fg/mL)	324	6786,0	100	270,3	4,0	0	0,0	581,3	8,6	410,7	6,1	647,1	9,5

SO = směrodatná odchylka, %VK = % variační koeficient, % shoda = procentuální shoda, N/A = nevztahuje se na negativní analyt.

Poznámka: Variabilita pro některé faktory může být numericky negativní, k čemuž může dojít, pokud je variabilita důsledkem těch faktorů velmi malá. Pokud k tomu dojde, variabilita podle směrodatné odchylky a % variačního koeficientu je nastavena na nulu (13).

Preciznost testu Aptima GC v rámci laboratoře pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byla zjišťována pomocí označení zkumavek s roztokem PreservCyt 20 GC CFU na zkumavku (0,1 CFU na reakci) a 100 GC CFU na zkumavku (0,5 CFU na reakci). Jako pozitivní a negativní kontroly byly testovány zkumavky obsahující 10 000 GC CFU na zkumavku (50 CFU na reakci) a zkumavky s neoznačeným roztokem PreservCyt. Mezi dva operátory bylo rozděleno deset zkumavek označených na každé úrovni CFU a deset zkumavek s neoznačeným roztokem. Operátoři promíchali zkumavky ve vortexové třepačce a pak přenesli 14 alikvotů (po 1,0 mL) do 14 zkumavek Aptima pro přenos vzorků, v souladu s příbalovou informací soupravy pro přenos vzorků Aptima. Operátorům nebyly známy titry vzorků. Každý Pap vzorek v přepravním médiu byl jednou testován testem Aptima GC. V období pěti dnů bylo zpracováno pět cyklů pro 140 výsledků o hladině 0,1, 0,5 a 50 CFU. Panel negativní kontroly podal 136 platných a 4 neplatné výsledky. Neplatné výsledky byly způsobeny nesprávným umístěním TTU v luminometru Leader HC+. Výsledky jsou sumarizovány v tabulce 10.

Tabulka 10: Údaje o preciznosti testu Aptima GC pro PreservCyt v rámci laboratoře s použitím 4členného panelu pro preciznost, který obsahoval 0 až 500 CFU/mL GC buněk

Člen panelu	CFU/mL PreservCyt	CFU/ rxn	N	Sou- hlasné	% shoda	Průměr RLU (x1 000)	U operátora		Mezi dny		Mezi operátory		Celkem	
							SO (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)
A	1	0,1	140	39	27,9	313,7	758,3	241,7	132,5	42,2	0,0	0,0	769,8	245,4
B	5	0,5	140	113	80,7	1 211,1	1 031,3	85,2	169,8	14,0	150,4	12,4	1 056,0	87,2
C	500	50	140	140	100	5 636,8	220,7	3,9	135,7	2,4	0,0	0,0	259,1	4,6
D	0	0	136*	136	100	1,2	0,5	N/A	0	N/A	0,3	N/A	0,6	N/A

* Čtyři neplatné výsledky byly způsobeny nesprávným umístěním TTU v luminometru Leader HC+.

Poznámka: Variabilita pro některé faktory může být numericky negativní, k čemuž může dojít, pokud je variabilita důsledkem těch faktorů velmi malá. Pokud k tomu dojde, variabilita podle směrodatné odchylky a % variačního koeficientu je nastavena na nulu (13). N/A = nevztahuje se na negativní členy panelu. Operátor = cyklus. Vzorky s nesouhlasnými výsledky byly zahrnuty do analýzy variability signálu.

Analytická výkonnost DTS systémů

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

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

Analytická citlivost

Analytická citlivost *N. gonorrhoeae* (detekční mez) byla stanovena přímým porovnáním ředění 51 různých klinických izolátů v kultivaci a v testu Aptima GC. Deklarovaná analytická citlivost testu je 50 CFU/test (362 CFU/výtěr, 250 CFU/mL moči, 487,5 CFU/mL tekutého Pap v roztoku PreservCyt).

Analytická specifita

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

Tabulka 11: Analytická specifická

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

U všech testovaných organismů byl výsledek testu Aptima GC negativní.

Interferující látky

Do výtěrů, tekutých vzorků Pap v roztoku PreservCyt a vzorků moči byly jednotlivě přidány následující interferující látky: 10 % krve, antikoncepční gel, spermicid, zvlhčovací krém, analgetikum na hemoroidy, kosmetický olej, pudr, protiplísňový krém, vaginální lubrikant, vaginální sprej a leukocyty ($1,0 \times 10^6$ buněk/mL). Do vzorků moči byly jednotlivě přidány následující interferující látky: 30 % krev, analyty moči, protein, glukóza, ketony, bilirubin, nitrát, urobilinogen, pH 4 (kyselý), pH 9 (zásaditý), leukocyty ($1,0 \times 10^6$ buněk/mL), buněčná drť, vitamíny, minerály, acetaminofen, aspirin a ibuprofen. Všechny byly testovány na potenciální interferenci s testem za nepřítomnosti a přítomnosti GC s odhadovaným ekvivalentem rRNA 50 GC buněk/test (250 fg/test). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA:RNA/buňka každého organismu.

U žádné testované látky nebyla pozorována žádná interference. U testu Aptima GC nebyly pozorovány žádné inhibitory amplifikace.

Výtěžnost

Escherichia coli, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides ureolyticus*, a *Staphylococcus epidermidis* ($1,0 \times 10^8$ buněk/test) byly přidány do vzorků obsahujících ekvivalent rRNA přibližně 50 GC buněk (250 fg). Tyto přísady neinterferovaly s amplifikací a detekcí GC rRNA pomocí testu Aptima GC.

Studie stability vzorku

A. Výtěry a vzorky moči

Údaje podporující doporučené přepravní a skladovací podmínky pro vzorky endocervikálních, uretrálních a vaginálních výtěrů byly generovány pomocí směsných negativních vzorků výtěrů. Směsné vzorky byly označeny GC při finální koncentraci přibližně 50 CFU na jednu reakci. Označené vzorky byly uchovány při teplotě -70 °C , -20 °C , 4 °C a 30 °C . Vzorky byly testovány ve dvojicích ve dnech 0, 20, 77 a 117. Všechny testovací podmínky byly pozitivní na GC vždy a za všech teplot.

Údaje podporující doporučené přepravní a skladovací podmínky pro vzorky moči byly vytvořeny pomocí negativních vzorků moči žen a mužů. Vzorky moči byly označeny GC při finální koncentraci přibližně 100 CFU na jednu reakci. Vzorky byly uchovávány při teplotě 30 °C po dobu 24 hodin před přidáním do přepravního média na moč (UTM). Vzorky UTM pak byly uchovány při teplotě 4 °C a 30 °C a byly testovány ve trojicích ve dnech 1, 14, 32 a 35. Vzorky UTM byly také uchovávány při teplotě -20 °C a -70 °C a byly testovány ve trojicích ve dnech 1, 35 a 109. Všechny replikáty byly pozitivní na GC u vzorků UTM uchovávaných při 4 °C a -70 °C . Když byly vzorky UTM uchovávány při teplotě 30 °C , 94 % procent replikátů bylo pozitivních na GC v den 35. Když byly vzorky UTM uchovávány při teplotě -20 °C , 98 % procent replikátů bylo pozitivních na GC v den 109.

B. Tekutý Pap vzorek v roztoku PreservCyt

Údaje podporující doporučené přepravní a skladovací podmínky pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byly generovány pomocí negativních zpracovaných a nezpracovaných tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt. Pro nezpracované vzorky byly testovány čtyři skupiny vzorků roztoku PreservCyt po uchování ve zkumavce Cytoc s roztokem PreservCyt. Každý typ směsných vzorků byl označen pomocí 50-100 CFU GC/test, uchovávan při 2 °C , 10 °C a 30 °C , a poté testován v den 0 a ve dnech 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 a 36. Všechny označené vzorky byly pozitivní na GC, a to vždy a za všech teplot.

Pro zpracované vzorky byly testovány čtyři skupiny směsných vzorků v roztoku PreservCyt, aby byla zjištěna stabilita zpracovaných vzorků při teplotě 2 °C až 30 °C. Každá skupina negativních směsných vzorků byla označena 50-100 CFU GC/test a pak testována v den 0. Před zpracováním byly vzorky v roztoku PreservCyt uchovávány při 30 °C po dobu sedmi (7) dnů, pro simulování průběhu času od odběru vzorku, zpracování Pap a přepravy do mikrobiologické laboratoře. Po sedmi dnech při 30 °C byly 1 mL alikvoty z každé skupiny směsných vzorků přeneseny do zkumavek Aptima pro přenos vzorků a testovány v den 0, a poté uloženy při teplotě 2 °C, 10 °C a 30 °C. Zpracované vzorky uchovávané při teplotě 30 °C byly pak testovány po dobu 17 dnů, a vzorky uchovávané při teplotě 2 °C až 10 °C po dobu 36 dnů. Všechny označené vzorky byly pozitivní na GC, a to vždy a za všech teplot.

Údaje podporující podmínky delšího uchovávání byly generovány ze čtyř skupin směsných negativních vzorků zpracovaných v roztoku PreservCyt testovaných pod bodem mrazu. Každá skupina směsných vzorků byla označena 50-100 CFU GC/test a pak testována v den 0. Každá skupina byla nejdříve uložena při 30 °C po dobu 14 dnů a pak uchováвана při -20 °C nebo -70 °C po dobu 106 dnů. Všechny označené vzorky byly pozitivní na GC, a to vždy a za všech teplot.

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

Údaje podporující doporučené podmínky uchovávání při teplotě -20 °C pro endocervikální výtěr, uretrální výtěr, vaginální výtěr, vzorek ženské moči, vzorek mužské moči a tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byly generovány pomocí 90 vzorků pro každý typ s negativním výsledkem, kde 30 vzorků bylo označeno GC při 50 CFU na reakci, 30 vzorků bylo označeno při 5 CFU na reakci a 30 vzorků nebylo označeno. Vzorky byly skladovány při -20 °C a byly testovány ve dnech 0, 200 a 400. Všechny označené vzorky splnily kritéria přijatelnosti s 95 % shodou s očekávanými výsledky.

Shoda klinických vzorků systému Tigris DTS

Shoda systému Tigris DTS

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

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

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

Pro srovnávací testování testem Aptima GC v systému Tigris DTS a systémech DTS bylo vybráno 129 výtěrů žen (70 endocervikálních a 59 vaginálních), 133 mužských uretrálních výtěrů, 72 vzorků moči žen, 130 vzorků moči mužů a 51 tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt s pozitivními a negativními výsledky na GC v testu Aptima Combo 2. Většina vzorků (88 ženských výtěrů a 93 mužských výtěrů, 47 vzorků moči žen, 70 vzorků moči mužů a 34 tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt) zvolených pro srovnávací testování byla od symptomatických jedinců. Vzorky s úvodním neplatným nebo nejednoznačným výsledkem byly testovány znovu na stejném systému, který původní výsledek podal. Tři vzorky moči žen, 1 vaginální výtěr a 1 mužský uretrální výtěr měly úvodní nejednoznačný výsledek na systémech DTS a v opakovaném testu všechny podaly platné výsledky. Jeden vzorek moči muže a jeden vzorek moči ženy měly úvodní neplatný výsledek na systému Tigris DTS a v opakovaném testu oba podaly platné výsledky.

Tabulce 12 uvádí pozitivní, negativní a celkovou shodu pro všechny spárované výsledky pro každý typ vzorku podle stavu příznaků. Vzorky výtěrů žen (kombinované endocervikální a vaginální) nejsou ve srovnání s pozitivními a negativními vzorky symptomatických jedinců vyrovnané, ale celková shoda pro symptomatické jedince byla 100 %, pro asymptomatické jedince 97,6 % (40/41) a pro všechny (symptomatické a asymptomatické dohromady) byla celková shoda 99,2 % (128/129). Pro mužské uretrální výtěry byla u symptomatických, asymptomatických a všech pacientů celková shoda 100 %. Pro vzorky moči žen byla u symptomatických pacientek celková shoda 100 %, u asymptomatických 96,0 % (24/25) a u všech pacientek byla 98,6 % (71/72).

Pro vzorky moči mužů byla u symptomatických pacientů celková shoda 98,6 % (69/70), u asymptomatických 100 % a u všech pacientů byla 99,2 % (129/130). Pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt byla u symptomatických, asymptomatických a „všech“ pacientek celková shoda 100 %. Vzhledem k relativně menšímu počtu vzorků od asymptomatických

jedinců tyto závěry nemusí obecně platit pro použití testu Aptima GC v systému Tigris DTS k testování vzorků od asymptomatických jedinců.

Viz tabulce 4 uvádějící odhady výkonnosti testu Aptima GC pro endocervikální výtěr, vaginální výtěr, mužský uretrální výtěr a mužské a ženské vzorky moči a tabulce 5a pro tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt, při testování na systémech DTS. Vzhledem ke zjištěným hodnotám shody se očekává, že odhady klinické výkonnosti systému Tigris DTS budou pro endocervikální výtěr, vaginální výtěr, mužský uretrální výtěr a vzorky mužské a ženské moči podobné.

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

Příznak	Vzorek	Pohlaví	N	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris-	DTS- Tigris+	DTS- Tigris-	Pozitivní shoda v % (95 % interval spolehlivosti)	Negativní shoda v % (95 % interval spolehlivosti)	Celková shoda v % (95 % interval spolehlivosti)
Sympt.	Výtěr	Žena*	88	55	0	0	33	100 (93,5-100)	100 (89,4-100)	100 (95,9-100)
		Muž	93	66	0	0	27	100 (94,6-100)	100 (87,2-100)	100 (96,1-100)
	Moč	Žena	47	24	0	0	23	100 (85,8-100)	100 (85,2-100)	100 (92,5-100)
		Muž	70	60	1	0	9	98,4 (91,2-100)	100 (66,4-100)	98,6 (92,3-100)
	PreservCyt	Žena	34	28	0	0	6	100 (87,7-100)	100 (54,1-100)	100 (89,7-100)
	Asympt.	Výtěr	Žena*	41	23	0	1 ¹	17	100 (85,2-100)	94,4 (72,7-99,9)
Muž			40	7	0	0	33	100 (59,0-100)	100 (89,4-100)	100 (91,2-100)
Moč		Žena	25	9	0	1	15	100 (66,4-100)	93,8 (69,8-99,8)	96,0 (79,6-99,9)
		Muž	60	5	0	0	55	100 (47,8-100)	100 (93,5-100)	100 (94,0-100)
PreservCyt		Žena	17	12	0	0	5	100 (73,5-100)	100 (47,8-100)	100 (80,5-100)
Vše		Výtěr	Žena*	129	78	0	1 ¹	50	100 (95,4-100)	98,0 (89,6-100)
	Muž		133	73	0	0	60	100 (95,1-100)	100 (94,0-100)	100 (97,3-100)
	Moč	Žena	72	33	0	1	38	100 (89,4-100)	97,4 (86,5-99,9)	98,6 (92,5-100)
		Muž	130	65	1	0	64	98,5 (91,8-100)	100 (94,4-100)	99,2 (95,8-100)
	PreservCyt	Žena	51	40	0	0	11	100 (91,2-100)	100 (71,5-100)	100 (93,0-100)

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

*Endocervikální a vaginální výtěry dohromady.

¹Jeden vaginální výtěr měl nesouhlasný výsledek.

Studie preciznosti

Účinek několika faktorů na variabilitu výkonnosti testu Aptima GC v systému Tigris DTS byl hodnocen pomocí 12členného panelu reprodukovatelnosti (pohlavní choroby). Ve členech panelu byl obsah rRNA 0 až 250 000 fg GC rRNA/test. Panel zahrnoval členy s koncentrací GC na hranici deklarované analytické citlivosti 250 fg GC rRNA/test.

Panely byly testovány v jednom externím centru a v Hologic s použitím 2 šarží reagensů testu Aptima GC. V Hologic zpracoval každý ze dvou operátorů 3 platné pracovní seznamy na jednu šarží reagensů na každém ze dvou přístrojů Tigris DTS. V externím centru zpracoval každý ze dvou operátorů 3 platné pracovní seznamy na jednu šarží reagensů na jednom přístroji Tigris DTS. Jeden pracovní seznam se skládal z kontrol cyklu a šesti 12členných panelů. Vzorky s úvodním neplatným nebo nejednoznačným výsledkem z platných pracovních seznamů nebyly znovu testovány. Jedenáct vzorků podalo konečně neplatné výsledky a bylo z analýz reprodukovatelnosti vyloučeno.

Reprodukovatelnost byla stanovena výpočtem shody mezi konečnými výsledky testu a očekávaným výsledkem pro každého člena panelu. Reprodukovatelnost byla také hodnocena podle výpočtu směrodatné odchylky (SO) a variačního koeficientu (VK) signálu ve vztahu k centrům, operátorům, šaržím a pracovním seznamům. Variační koeficienty nebyly vypočteny pro GC-negativní členy panelu vzhledem k nízké hodnotě signálu, která by teoreticky mohla být nulová. Tabulce 13 uvádí výsledky reprodukovatelnosti. Všechny výsledky testu Aptima GC na systému Tigris DTS se shodovaly s očekávanými výsledky členů panelu obsahujícími 0, 250, 25 000 a 250 000 fg GC rRNA/test. U členů panelu obsahujících 2 500 fg GC rRNA/test byla shoda s očekávanými výsledky 99,8 %. Hodnoty variačního koeficientu byly maximálně 9,0 %. Tyto údaje naznačují dobrou reprodukovatelnost testu Aptima GC při použití na systému Tigris DTS.

Tabulka 13: Údaje o preciznosti systému Tigris DTS

Konc (fg rRNA/ test)	N	Průměr RLU (x1 000)	% Shod	Mezi centry		Mezi operátory		Mezi šaržemi		Mezi pracovními seznamy		V rámci pracovního seznamu	
				SO (x1 000)	VK (%)	SO ¹ (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)	SO (x1 000)	VK (%)
0	859 ²	4,6	100	1,7	N/A	0,0	N/A	0,3	N/A	0,7	N/A	2,7	N/A
250	429 ³	4148	100	236	5,7	170	4,1	212	5,1	94,9	2,3	222	5,3
2 500	429 ⁴	5361	99,8	275	5,1	145	2,7	273	5,1	25,1	0,5	482	9,0
25 000	430 ⁵	5871	100	325	5,5	163	2,8	303	5,2	106	1,8	176	3,0
250 000	431 ⁶	6037	100	317	5,2	167	2,8	303	5,0	126	2,1	186	3,1

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

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

² Vzhledem ke konečným neplatným výsledkům byly 4 vzorky z této analýzy vyloučeny. Navíc na jednom pracovním seznamu chyběl 1 replikát každého ze členů GC-negativního panelu.

³ Vzhledem ke konečným neplatným výsledkům byly 3 vzorky z této analýzy vyloučeny.

⁴ Vzhledem ke konečným neplatným výsledkům byly 2 vzorky z této analýzy vyloučeny. Kromě toho na dvou pracovních seznamech chyběl jeden replikát člena panelu s 2 500 fg GC rRNA/test a jeden pracovní seznam zahrnoval 1 nadbytečný replikát člena panelu s 2 500 fg GC rRNA/test.

⁵ Vzhledem ke konečným neplatným výsledkům byly 2 vzorky z této analýzy vyloučeny. Navíc jeden pracovní seznam zahrnoval 1 nadbytečný replikát člena panelu s 25 000 fg GC rRNA/test. Na stejném pracovním seznamu chyběl 1 replikát dalšího člena panelu s 25 000 fg GC rRNA/test.

⁶ Na jednom pracovním seznamu chyběl 1 replikát člena panelu s 250 000 fg GC rRNA/test.

Poznámka: Vzorky s neplatným výsledkem testu byly vyloučeny. Analýza variability signálu zahrnuje vzorky s nesouhlasnými výsledky.

Analytická výkonnost Tigris DTS systémů

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

Studie ekvivalence analytické citlivosti

Panely citlivosti ve směsných endocervikálních a vaginálních vzorcích, směsných vzorcích moči a směsném tekutém Pap vzorku v roztoku PreservCyt byly připraveny při GC 250 fg/test rRNA a 60 replikátů bylo testováno na systému Tigris DTS. Procento pozitivních (interval spolehlivosti 95 %) u endocervikálních výtěrů v systému Tigris DTS bylo 100 % (95,1 - 100), u vaginálních výtěrů 100 % (95,1 - 100), u vzorků moči 100 % (95,1 - 100), a u tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt bylo 100 % (95,1 - 100).

Studie klinického panelu označeného GC rRNA

Studie klinického panelu označeného GC rRNA hodnotila shodu mezi dvěma systémy pomocí šesti klinických panelů GC připravených Hologic a označených pomocí 0 až 250 000 fg rRNA/test GC. Klinické panely GC byly vytvořeny z vzorků endocervikálních a vaginálních výtěrů, uretrálních výtěrů, vzorků moči mužů a žen a tekutých vzorků Pap v roztoku PreservCyt, které měly negativní výsledky testu Aptima GC na systémech DTS při testování v Hologic. Negativní vzorky byly smíšeny dle typu vzorku, označeny nebo neoznačeny pomocí GC rRNA a alikvotně rozděleny jako replikáty každého člena panelu. Replikáty každého ze 6 členů panelu s odlišnými označenými hladinami rRNA byly zkombinovány, aby vznikl jeden klinický panel pro každý typ vzorku. Každý panel obsahoval celkem 132 replikátů.

Počáteční údaje pro moč žen a mužů ukázaly, že u některých členů panelu s obsahem rRNA na hladině pod deklarovanou analytickou citlivostí byl podán neočekávaný negativní výsledek v systému Tigris DTS. Za účelem prokázání a potvrzení shody s očekávanými výsledky u označených panelů moči mužů nebo žen byly provedeny dvě kontrolní studie. Původní design studie kombinoval negativní vzorky do jedné hlavní směsi. Design kontrolní studie vzorků moči žen a mužů byl pozměněn. Alikvoty vzorků byly přidány do potvrzených negativních mini-směsí pro vytvoření pozitivních a negativních panelů. Pro každý panel bylo vytvořeno 138 replikátů.

Tabulce 14 uvádí procentuální shodu pro každou hladinu rRNA v panelech endocervikálních a vaginálních výtěrů, uretrálních výtěrů, moči mužů a žen, a v panelech tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt s očekávanými výsledky GC pro systém Tigris DTS a pro systémy DTS. Koncentrace byly v rozsahu od 1 logaritmu pod až po 3 logaritmy nad hodnotu 250 fg rRNA/test pro GC. V tabulce 14 je také uvedena celková procentuální shoda studie klinického panelu mezi systémy Tigris DTS a DTS.

Tabulka 14: Studie shody klinického panelu označeného GC rRNA

Vzorek	Člen panelu	Koncentrace (fg rRNA/test)	Replikáty	% Shoda Tigris	% Shoda DTS	Celková procentuální shoda mezi Tigris a DTS (95 % interval spolehlivosti)
Endocervikální	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Velmi nízké	25	30	100	100	
	Nízký	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoký	250 000	30	100	100	
Výtěr	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Velmi nízké	25	29*	100	100	
	Nízký	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoký	250 000	30	100	100	
Uretrální	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Velmi nízké	25	30	100	100	
	Nízký	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoký	250 000	30	100	100	
Úvodní studie	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	91,7 (85,6-95,8)
	Velmi nízké	25	30	63.3 (19/30)	100	
	Nízký	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoký	250 000	30	100	100	
Moč – muž	Cíl nepřítomen	0	18	100	100	100 (97,4-100)
	Velmi nízké	25	30	100	100	
	Nízký	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoký	250 000	30	100	100	
Kontrola č. 2	Cíl nepřítomen	0	18	100	100	100 (97,4-100)
	Velmi nízké	25	30	100	100	
	Nízký	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoký	250 000	30	100	100	

*Netestováno na obou systémech vzhledem k nedostatečnému objemu vzorku

Tabulka 14: Studie shody klinického panelu označeného GC rRNA (pokračování)

Vzorek	Člen panelu	Koncentrace (fg rRNA/test)	Replikáty	% Shoda Tigris	% Shoda DTS	Celková procentuální shoda mezi Tigris a DTS (95 % interval spolehlivosti)
Úvodní studie	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	75,8 (67,5-82,8)
	Velmi nízké	25	30	13,3 (4/30)	100	
	Nízký	250	30	80 (24/30)	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoký	250 000	30	100	100	
Moč – žena Kontrola č. 1	Cíl nepřítomen	0	18	100	100	99,3 (96,0-100)
	Velmi nízké	25	30	96,7 (29/30)	100	
	Nízký	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoký	250 000	30	100	100	
Kontrola č. 2	Cíl nepřítomen	0	18	100	100	97,8 (93,8-99,5)
	Velmi nízké	25	30	90 (27/30)	100	
	Nízký	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoký	250 000	30	100	100	
Tekutý Pap v roztoku PreservCyt	Cíl nepřítomen	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Velmi nízké	25	30	100	100	
	Nízký	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoký	250 000	30	100	100	

*Netestováno na obou systémech vzhledem k nedostatečnému objemu vzorku

Studie ekvivalence analytické specifity

Pro test amplifikace nukleové kyseliny je analytická specifita s ohledem na jednotlivé organismy z větší části určována chemií testu (např. oligonukleotidovou sekvencí) a nikoliv platformou. Vzhledem k tomu, že reagentie pro test Aptima GC jsou identické pro systém Tigris DTS a systémy DTS, experimenty analytické specifity systému Tigris DTS byly navrženy s cílem zaměřit se na izoláty kultivace s největší náročností. Tyto organismy zahrnovaly ty, u nichž je známo, že zkříženě reagují v jiných amplifikačních testech. Dvacet čtyři (24) izolátů kultivace bylo vybráno z panelu organismů v tabulce 11, včetně 17 organismů, které jsou nejbližší příbuzné GC. Všechny testované organismy produkovaly negativní výsledky s výjimkou jednoho falešně pozitivního výsledku (1/648). Toto bylo pozorováno u *C. pneumoniae*, kde 1 replikát z 27 podal falešný výsledek. Opakované testování nepotvrdilo zkříženou reaktivitu s tímto organismem (*C. pneumoniae*), neboť u dalších 6 replikátů testu nebyly pozorovány pozitivní výsledky.

Studie ekvivalence interferujících látek

Plná krev, látka, která se běžně nachází v urogenitálních vzorcích a o které je známo, že ovlivňuje některé amplifikační testy, byla použita k potvrzení, že systém Tigris DTS toleruje podobné hladiny potenciálně interferujících látek jako systémy DTS. Čerstvá krev byla přidána do klinických směsných vzorků výtěru, vaginálního výtěru, moči a tekutého Pap

vzorku v roztoku PreservCyt a pak testována ohledně potenciální interference s testem za nepřítomnosti nebo přítomnosti cílové GC s odhadovaným rRNA ekvivalentem 50 GC CFU/test (250 fg/test). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA:RNA/buňka každého organismu. Vzorky byly testovány na dvou systémech Tigris DTS. Všechny vzorky obsahující cílovou nukleovou kyselinu byly pozitivní při testování na hladině 10 % krve ve výtěrech, vaginálních výtěrech, tekutých Pap vzorcích v roztoku PreservCyt a 30 % krve ve vzorcích moči. Všechny vzorky, které neobsahovaly cíl, byly negativní na GC. Tyto výsledky naznačují, že na testovaných hladinách není pravděpodobné, aby plná krev ovlivnila výsledek GC v systému Tigris DTS.

Studie přenosu v systému Tigris DTS

Pro stanovení, že systém Tigris DTS snižuje riziko falešně pozitivních výsledků plynoucích z přenosu kontaminace, byla provedena studie užívající označené panely na třech systémech Tigris DTS. Studie použila 20 % vzorků s vysokým cílem GC obsahujících $1,0 \times 10^9$ buněk/reakci, které byly náhodně umístěny mezi 80 % negativních vzorků obsahujících přepravní médium pro výtěry. V průběhu studie bylo testováno 576 vzorků s vysokým cílem a 2 376 negativních vzorků na třech systémech Tigris DTS. Tabulce 15 uvádí, že celkový výskyt přenosu byl v průměru 0,21 % (5/2 370). Celkem 6 negativních vzorků bylo hlášeno jako neplatných a byly vyřazeny z výpočtu. Samostatná analýza byla provedena na podskupině studijní populace tvořené negativními vzorky, které okamžitě následovaly pozitivní vzorek s vysokým cílem. Výskyt přenosu pro tuto podskupinu populace byl v průměru 0,95% (4/422). Pro falešně pozitivní v této podskupině byl přenos v rozsahu od 0 % do 2,16 % na třech systémech Tigris DTS. Tyto výsledky ukazují, že přenos kontaminace je u systému Tigris DTS omezený.

Tabulka 15: Shrnutí celkového přenosu v systému Tigris DTS

Přístroj	Počet platných negativních testů	Celkový počet falešně pozitivních výsledků GC	% falešně pozitivních výsledků GC	Intervaly spolehlivosti (95 % interval spolehlivosti)
Tigris 1	787	0 ^a	0,00	0,00 - 0,38
Tigris 2	791	1 ^b	0,13	0,00 - 0,70
Tigris 3	792	4 ^c	0,51	0,14 - 0,29
Všechny přístroje	2 370	5	0,21	0,07 - 0,49

- a. Systému Tigris DTS 1 nepodal žádný falešně pozitivní výsledek GC ihned po pozitivním výsledku s vysokým cílem.
 b. Systému Tigris DTS 2 podal jeden falešně pozitivní výsledek GC ihned po pozitivním výsledku s vysokým cílem.
 c. Systému Tigris DTS 3 podal tři falešně pozitivní výsledky GC ihned po pozitivním výsledku s vysokým cílem.

Analytická výkonnost systému Panther

Studie shody označeného klinického panelu

Individuální negativní vzorky moči byly označeny GC pro vytvoření panelu 120 GC pozitivních. GC pozitivní členové panelu byli označeni organismy na hladině 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL nebo 1 250 CFU/mL (25 fg/test, 250 fg/test nebo 2 500 fg/test). Kromě toho bylo odebráno 120 GC negativních vzorků moči. Pozitivní a negativní panely byly testovány na třech systémech Panther a třech systémech Tigris DTS. Pozitivní procentuální shoda mezi systémem Panther a systémem Tigris DTS byla 100 %, s nižším 95 % intervalem spolehlivosti 98,9. Negativní procentuální shoda mezi systémem Panther a systémem Tigris DTS byla 100 %, s nižším 95 % intervalem spolehlivosti 98,9. Výsledky této studie jsou uvedeny v tabulce 16.

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

Člen panelu	Koncentrace		Replikáty	Tigris % Shoda	Panther % Shoda
	CFU/mL	fg/test			
Velmi nízké pozitivní	12,5	25	117	100	100
Nízké pozitivní	125	250	120	100	100
Střední pozitivní	1 250	2 500	120	100	100
Negativní	0	0	360	100	100

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

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

Studie analytické citlivosti

Analytická citlivost testu Aptima GC byla testována s použitím tří reprezentativních maticí vzorků. Jednalo se o vzorky moči zpracované s médiem pro přepravu moči (Urine Transport Medium - UTM), tekuté Pap vzorky v roztoku PreservCyt naředěném médiem pro přepravu výtěrů (Swab Transport Medium - STM) a STM. Směsné vzorky těchto tří maticí byly označeny GC rRNA v následujících koncentracích: 25 fg/test, 250 fg/test a 2 500 fg/test (rRNA ekvivalenty 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL a 1 250 CFU/mL). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a z odhadu poměru DNA:RNA/buňka každého organismu. Tyto panely byly testovány na třech přístrojích Panther s použitím dvou šarží reagensů v replikátech po 96. Byla vypočtena pozitivní shoda s očekávanými výsledky. Shoda s očekávanými výsledky byla 100 % (95 % interval spolehlivosti 96,2–100 %) pro všechny panely moči, 100 % (95 % interval spolehlivosti 96,2–100 %) pro všechny panely vzorků Pap v roztoku PreservCyt a 100 % (95 % interval spolehlivosti 96,1–100 %) pro všechny panely STM. Analytická citlivost testu je 125 CFU/mL.

Studie reprodukovatelnosti

Preciznost testu Aptima GC byla hodnocena na třech systémech Panther se dvěma šaržemi souprav testu Aptima GC v období 24 dnů. Byly vytvořeny panely obsahující STM označené GC rRNA v koncentracích uvedených v tabulce 17. Operátoři zpracovali dva cykly každý den, a každý člen panelu byl zpracován ve dvou replikátech na jeden cyklus. Byla vypočtena shoda s očekávanými výsledky a preciznost byla odhadnuta v souladu s NCCLS pokyny č. EP5-A2 (15). V každém panelu bylo obsaženo celkem 96 replikátů. Tabulce 17 uvádí preciznost údajů RLU ve smyslu průměru, směrodatné odchylky, variačního koeficientu (VK) a procentuální shody s očekávanými výsledky a výpočty variability mezi přístroji, mezi šaržemi, mezi cykly a v rámci cyklu.

Tabulka 17: Preciznost systému Panther pro test Aptima GC

Matrice	GC (CFU/mL)	N	Průměrná RLU (x1 000)	% shoda	Mezi přístroji		Mezi šaržemi		Mezi cykly		V rámci cyklu		Celkem	
					Směrodatná odchylka (x1 000)	VK (%)	Směrodatná odchylka (x1 000)	VK (%)	Směrodatná odchylka (x1 000)	VK (%)	Směrodatná odchylka (x1 000)	VK (%)	Směrodatná odchylka (x1 000)	VK (%)
STM	0	96	3	100	0	0	0	0	0	0	2,01	72,8	2	72,5
	12,5	96	3 951	100	215,14	5,4	0	0	0	0	568,24	14,4	607,6	15,4
	125	95*	5 839	100	370,17	6,3	0	0	0	0	772,58	13,2	856,7	14,7
	1 250	96	6 207	100	338,25	5,4	0	0	0	0	787,64	12,7	857,2	13,8
Moč	0	95*	3	100	0,69	21,6	0,81	25,5	0,77	24,2	2,43	76,3	2,8	87,8
	12,5	96	3 460	100	0	0	195,84	5,7	113,27	3,3	207,53	6	307	8,9
	125	96	6 047	100	158,67	2,6	170,32	2,8	0	0	206,24	3,4	311	5,1
	1 250	96	6 737	100	218,35	3,2	238,49	3,5	66,22	1	176,72	2,6	374,4	5,6
PreservCyt	0	95*	6	100	1,9	33,6	0	0	0,54	9,5	5,96	105,2	6,3	111,2
	12,5	96	3 358	100	257,9	7,7	0	0	0	0	485,45	14,5	549,7	16,4
	125	96	5 272	100	243,09	4,6	201,89	3,8	0	0	751,72	14,3	815,4	15,5
	1 250	96	5 945	100	355,95	6	51,06	0,9	0	0	759,35	12,8	840,2	14,1

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

* Hodnota n = 95 indikovala 1 neplatný replikát z 96, který nebyl opakován.

Analytická specifita

Analytická specifita nebyla na přístroji Panther testována. Viz část *Analytická výkonnost Tigris DTS systémů*, která uvádí údaje *Studie ekvivalence analytické specifity*.

Studie ekvivalence interferujících látek

Krev, která se běžně nachází v urogenitálních vzorcích, může ovlivňovat některé amplifikační testy. Plná krev byla používána pro stanovení stupně interference krve na systému Panther s ohledem na tuto potenciální interferující složku. Čerstvá krev byla přidána do skupin směsí klinických vzorků vaginálního výtěru, zpracovaných tekutých Pap vzorků v roztoku PreservCyt a vzorků moči a poté provedeny testy ohledně potenciální interference za přítomnosti nebo nepřítomnosti GC cíle. Odhadovaný rRNA ekvivalent 125 GC CFU/mL (250 fg/test) byl použit jako cílová koncentrace, protože představuje analytickou citlivost testu. Vzorky byly testovány na systému Panther. Všechny vzorky obsahující cílovou nukleovou kyselinu byly pozitivní při testování na hladině 10 % (obj./obj.) krve ve výtěrech nebo tekutých Pap vzorcích v roztoku PreservCyt a 30 % (obj./obj.) krve ve vzorcích moči.

Všechny vzorky, které neobsahovaly cíl, byly správně identifikovány jako negativní. Tyto výsledky jsou identické s výsledky, které byly získány pro systém Tigris DTS po nastříknutí stejným množstvím krve. Krev přidaná k výtěru, tekutým Pap vzorkům v roztoku PreservCyt a vzorkům moči v množství větším, než by mohlo být očekáváno u normálního odběru vzorku, neinterferovala s výsledky systému Panther.

Studie přenosu v systému Panther

Pro stanovení, že systém Panther omezuje riziko falešně pozitivních výsledků plynoucích z přenosu kontaminace, byla provedena vícecyklová analytická studie užívající označené panely na třech systémech Panther. Přenos byl hodnocen s použitím přibližně 20 % GC vzorků o vysokém titru, které byly rozmístěny mezi negativní vzorky. Cykly zahrnovaly skupiny vysoce pozitivních vzorků se skupinami negativních vzorků a také jednotlivé vysoce pozitivní vzorky rozmístěné ve specifickém vzorci v rámci cyklu. Byly připraveny vzorky o vysokém titru přidáním GC rRNA do STM tak, aby vznikla konečná koncentrace 5×10^5 fg rRNA/reakci (rRNA ekvivalent $2,5 \times 10^5$ CFU/mL). Testování se provádělo v 5 cyklech na třech systémech Panther s celkovým počtem 2 923 negativních vzorků. Celkový výskyt přenosu byl 0 % s 95 % intervalem spolehlivosti 0–0,1 %. Celkem 17 negativních vzorků z cyklů s vysokým titrem bylo hlášeno jako neplatných a byly vyřazeny z výpočtu.

Literatura

1. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. **51** (RR-15).
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
3. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. J. Clin. Microbiol. **33**:3111-3114.
4. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrick, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen Processing and Concentration of *Chlamydia trachomatis* Added Can Influence False-Negative Rates in the LCx Assay but Not in the Aptima Combo 2 Assay When Testing for Inhibitors. J. Clin. Microbiol. **41**:778-782.
5. **CUMITECH 31.** Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory.- ASM PRESS, FEBRUARY 1997.
6. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. **37**:386-390.
7. **Gaydos, C. A., T. C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the Aptima Combo 2 Assay for Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Female Urine and Endocervical Swab Specimens. J. Clin. Microbiol. **41**:304-309.
8. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander.** 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. NEJM **292**:1199-1205.
9. **Hook III, E. W. and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal Infections in the Adult. p. 458. In K. Holmes et. al. (eds.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, N.Y.
10. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. J. Clin. Microbiol. **4**:288-295.
11. **Masi, A. T., and B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. Semin. Arthritis Rheum. **10**:173.
12. **McCurdy, Brenda W.** 1997. Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory. February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
13. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
14. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. NCCLS EP12-A. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline for additional guidance on appropriate internal quality control testing practices.
15. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).
16. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test, J. Clin. Microbiol. **35**:957-959.
17. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. In E. H. Lennette, et al. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

18. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. Chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
19. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
20. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **123**:753-757.
21. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee.** 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. *J. Clin. Microbiol.* **36**:2666-2670.
22. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. *J. Clin. Microbiol.* **36**:2356-2358.
23. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. *J. Clin. Microbiol.* **34**:3072-3074.
24. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. *J. Clin. Microbiol.* **37**:74-80.



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



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



Podpora zákazníků: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Technická podpora: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Další kontaktní informace naleznete na www.hologic.com.

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

eppendorf (stylizovaná forma) a REPEATER jsou ochranné známky společnosti Eppendorf AG.

KOVA-TROL je ochranná známka společnosti Hycor Biomedical, Inc.

RAININ je obchodní známka společnosti Rainin Instrument, LLC.

TECAN a FREEDOM EVO jsou ochranné známky společnosti Tecan Group AG.

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

© 2003–2017 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

502185CS Rev. 004

2017-05