

Test Aptima Combo 2™

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine.

Information générale 2

 Usage prévu 2

 Résumé et explication du test 2

 Principes de la procédure 3

 Avertissements et précautions 4

 Conditions de conservation et de manipulation des réactifs 7

 Collecte et conservation des échantillons 8

Interprétation du test – CQ/Résultats patients 40

Limites 43

Valeurs attendues pour les DTS Systems 46

DTS Systems performance clinique 48

Rendement analytique des DTS Systems 72

Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System 76

Rendement analytique du Tigris DTS System 83

Rendement analytique du Panther System 87

Bibliographie 89

DTS™ Systems

DTS Systems 11

 Réactifs et matériel fournis 11

 Matériel requis mais vendu séparément 13

 Matériel optionnel 14

Procédure de test à l'aide des DTS Systems 14

 Remarques concernant la procédure 21

Tigris™ DTS™

Tigris DTS System 25

 Réactifs et matériel fournis 25

 Matériel requis mais vendu séparément 26

 Matériel optionnel 27

Procédure de test pour le Tigris DTS System 28

 Remarques concernant la procédure 31

Panther™

Panther System 32

 Réactifs et matériel fournis 32

 Matériel requis mais vendu séparément 34

 Matériel optionnel 35

Procédure de test pour le Panther System 35

 Remarques concernant la procédure 38

Information générale

Usage prévu

Le test Aptima Combo 2™ est un test par sonde d'acide nucléique pour l'amplification de cible qui utilise la capture de cible pour la détection qualitative et la différenciation *in vitro* du RNA ribosomique (rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) et/ou de *Neisseria gonorrhoeae* (GC) afin de faciliter le diagnostic des infections à Chlamydia et/ou gonococciques de l'appareil génito-urinaire au moyen du Tigris DTS System ou du Panther System, ou en utilisant des DTS Systems semi-automatiques, comme indiqué. Ce test peut être employé pour analyser les échantillons suivants provenant d'individus symptomatiques : échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et échantillons urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon; échantillons d'urine féminins et masculins. Ce test peut également être employé pour analyser les échantillons suivants provenant d'individus asymptomatiques : échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et échantillons urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon; échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal¹; échantillons d'urine féminins et masculins. Ce test est aussi prévu pour être utilisé avec les tests d'échantillons gynécologiques de patientes à la fois symptomatiques et asymptomatiques. Ces échantillons cervicaux collectés dans les flacons de solution PreservCyt™ peuvent être testés avant ou après le traitement du frottis. Seuls les échantillons traités avec le système ThinPrep™ 2000 peuvent être testés après le frottis.

¹Les échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal offrent une option de dépistage chez les femmes lorsqu'un examen pelvien n'est pas autrement indiqué. Le kit de collecte d'échantillons par écouvillonnage vaginal n'est pas conçu pour une utilisation à domicile.

Résumé et explication du test

Les infections à *Chlamydia trachomatis* (CT) et *Neisseria gonorrhoeae* (GC) sont les deux infections transmissibles sexuellement les plus courantes au monde. En 2010 (5), les Centres de contrôle des maladies (Centers for Disease Control) ont recensé, sur le territoire américain uniquement, un nombre de cas de nouvelles infections à CT estimé à 1 307 893 (426,0 cas sur 100 000) et un nombre de cas de nouvelles infections à GC estimé à 309 341 (100,8 cas sur 100 000).

Les Chlamydiae sont des bactéries intracellulaires strictes, non motiles et gram-négatives. L'espèce CT se compose de quinze sérotypes (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 et L3) susceptibles de provoquer des maladies chez l'homme (34). Les sérotypes D à K constituent la principale cause d'infections génitales à chlamydia chez l'homme et la femme (26). *C. trachomatis* peut provoquer des urétrites, des épидидymites, des rectites, des cervicites, des salpingites aiguës et des atteintes inflammatoires pelviennes (AIP) non gonococciques (3, 15, 28, 29). Les infections à *C. trachomatis* sont souvent asymptomatiques chez l'homme et la femme. Les enfants nés de mères infectées présentent un risque sensiblement plus élevé de conjonctivites à inclusions et de pneumonies à chlamydia (1, 11, 27).

Traditionnellement, plusieurs méthodes de détection de CT ont été utilisées en laboratoire clinique, notamment la culture de cellules, l'épreuve d'immunofluorescence directe et l'épreuve immunoenzymatique. Parmi les méthodologies plus récentes de détection de CT figurent les tests de sonde de DNA directs ainsi que les tests d'amplification de l'acide nucléique (TAAN) à l'aide de sondes de DNA. Auparavant, la culture de cellules était considérée comme la « norme de référence » pour la détection de CT. Bien que la culture soit particulièrement précise, les publications scientifiques ont démontré que les technologies TAAN à l'aide de sondes de DNA offrent une sensibilité clinique supérieure aux cultures (2, 9, 17, 30). En raison de sa sensibilité clinique plus faible et d'une performance variable d'un

laboratoire à l'autre, la culture a été remplacée dans de nombreux laboratoires par les tests de sonde de DNA directs et les TAAN.

N. gonorrhoeae est l'agent responsable des maladies gonococciques. Les *N. gonorrhoeae* sont des diplocoques Gram-négatifs non motiles. La majorité des infections gonococciques prennent la forme d'infections du tractus génital inférieur dénuées de complications et peuvent être asymptomatiques. Toutefois, si elles ne sont pas traitées chez la femme, ces infections peuvent remonter vers l'utérus et provoquer des atteintes inflammatoires pelviennes (AIP). Ces AIP se manifestent sous forme d'endométrites, de salpingites, de pelvipéritonites et d'abcès ovario-tubaires. Un faible pourcentage des personnes souffrant d'infections gonococciques peut développer des infections gonococciques disséminées (DGI) (14, 20).

Le diagnostic conventionnel de l'infection à GC nécessite l'isolation de l'organisme dans un support sélectif ou l'observation des diplocoques sur des frottis à coloration de Gram (16). Les méthodes de culture peuvent offrir une bonne sensibilité clinique, mais elles dépendent fortement de la qualité de la manipulation des échantillons. De mauvaises conditions de conservation ou de transport des échantillons peuvent affecter la viabilité des organismes et donner des résultats faussement négatifs. En outre, des techniques d'échantillonnages médiocres, du matériel d'échantillonnage toxique et l'inhibition de la croissance par des composants de sécrétion corporelle, peuvent également entraîner des résultats faussement négatifs (7, 18). Mis à part les cultures, les méthodes couramment utilisées pour la détection de GC comprennent les tests de sonde de DNA directs ainsi que les TAAN.

La première génération de TAAN pour CT et GC présentait des problèmes techniques qui en ont limité la performance. Ces problèmes étaient notamment liés à la difficulté de traitement des échantillons et à leur inhibition pouvant introduire des résultats faussement négatifs (6, 10, 13, 19, 25, 31, 32, 33). Le test Aptima Combo 2 est un TAAN de deuxième génération qui utilise les technologies de capture de cible, d'amplification par transcription (Transcription-Mediated Amplification, TMA™), ainsi que le double test cinétique (Dual Kinetic Assay, DKA) pour simplifier le traitement des échantillons, amplifier le rRNA cible et détecter l'amplicon, respectivement. Des études récentes comparant la performance et l'inhibition des échantillons avec divers systèmes d'amplification ont démontré les avantages des technologies de capture de cible, de la TMA et du DKA (8, 12). Le test Aptima Combo 2 détecte le rRNA de CT et/ou de GC dans les échantillons endocervicaux, vaginaux, et urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, les échantillons vaginaux collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, et les échantillons d'urine masculins et féminins provenant d'individus symptomatiques et asymptomatiques.

Principes de la procédure

Le Test Aptima Combo 2 associe les technologies de capture de cible, de la TMA et du DKA.

Les échantillons sont collectés et transférés dans leurs tubes de transport d'échantillon respectifs. Les solutions de transport de ces tubes libèrent les cibles de rRNA et les empêchent de se détériorer pendant la période de conservation. Lorsque le Test Aptima Combo 2 est réalisé en laboratoire, les molécules de rRNA cibles sont isolées à partir des échantillons à l'aide d'oligomères de capture par la méthode dite de « capture de cible » qui fait appel à des microparticules magnétiques. Les oligomères de capture contiennent les séquences complémentaires à des régions précises des molécules cibles de même qu'une chaîne de résidus de désoxyadénosine. Un oligomère de capture distinct est utilisé pour chaque cible. Lors de l'étape d'hybridation, les régions spécifiques de la séquence des oligomères de capture se fixent sur des régions précises des molécules cibles. Le complexe oligomère de capture/cible est ensuite capturé hors de la solution par la réduction de la

température de la réaction à température ambiante. Cette réduction de température permet à l'hybridation de se produire entre la région désoxyadénosine de l'oligomère de capture et les molécules de poly-désoxythymidine liées par covalence aux particules magnétiques. Les microparticules, y compris les molécules cible capturées auxquelles elles sont liées, sont attirées sur la paroi du tube de réaction par des aimants, et le surnageant est aspiré. Les particules sont lavées afin d'éliminer la matrice résiduelle de l'échantillon qui peut contenir des inhibiteurs de la réaction d'amplification. Une fois les étapes de capture de cible terminées, les échantillons sont prêts à l'amplification.

Les tests d'amplification de cible reposent sur la capacité des amorces d'oligonucléotides complémentaires de s'hybrider spécifiquement et de permettre l'amplification enzymatique des brins de l'acide nucléique cible. Le Test Aptima Combo 2 réplique une région spécifique du rRNA 23S de CT et une région spécifique du rRNA 16S de GC via des formes intermédiaires de DNA. On utilise un seul jeu d'amorces pour chaque molécule cible. La détection des séquences du produit de l'amplification du rRNA (amplicon) s'effectue par l'hybridation de l'acide nucléique. Des sondes de DNA chimioluminescentes monocaténares, qui sont complémentaires à une région de l'amplicon cible, sont marquées avec différentes molécules d'ester d'acridinium. Les sondes de DNA marquées se combinent à l'amplicon pour former des hybrides RNA:DNA stables. Le réactif de sélection différencie la sonde hybridée de celle qui ne l'est pas, éliminant ainsi la génération de signal par la sonde non hybridée. Lors de l'étape de détection, la lumière émise par les hybrides RNA:DNA marqués est mesurée en signaux de photons dans un luminomètre et exprimée en unités relatives de lumière (RLU). Dans la méthode DKA, le signal est différencié selon les différences qui existent dans les profils cinétiques des sondes marquées CT et GC; ces profils cinétiques proviennent de mesures de l'émission de photons pendant la durée de lecture. La réaction de détection chimioluminescente du signal de CT a une cinétique très rapide et un profil cinétique de type « signal éclair ». La réaction de détection chimioluminescente du signal de GC est relativement plus lente et son profil cinétique est de type « signal brillant ». Les résultats du test sont déterminés par des valeurs limites basées sur les unités RLU totales et le type de courbe cinétique.

Avertissements et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro*.
- B. Pour tout avertissement, précaution ou procédure complémentaire concernant le contrôle de la contamination avec le Tigris DTS System, consulter le *Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual).
- C. Pour tout avertissement, précaution ou procédure complémentaire concernant le contrôle de la contamination pour le Panther System, consulter le *Manuel de l'utilisateur du Panther System* (Panther System Operator's Manual).

Recommandations concernant les laboratoires

- D. Le test n'a pas été évalué dans des populations de patients présentant une prévalence faible pour les infections à Chlamydiae; ainsi, la performance du test dans un environnement où la prévalence est faible n'a pas été établie.
- E. N'utiliser que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- F. Appliquer les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail signalées. Porter des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et une blouse de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Bien se laver les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du kit.

- G. **Avertissement : Substances irritantes et corrosives** : Éviter que les solutions Auto Detect 1 et Auto Detect 2 entrent en contact avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact de ces liquides avec la peau ou les yeux, laver la zone touchée à l'eau. En cas de déversement de ces liquides, diluer le produit répandu à l'eau avant de l'essuyer.
- H. Les plans de travail, les pipettes et le matériel utilisé doivent être régulièrement décontaminés à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

- I. Il est fortement recommandé de réserver un espace de travail spécifique au test DKA pour minimiser la contamination par l'amplicon lors du test. Cet espace de travail devrait être éloigné du lieu de préparation du réactif, de capture de cible et d'amplification.
- J. Pour éviter la contamination des différentes zones du laboratoire par l'amplicon, le sens de travail du laboratoire devrait être unidirectionnel : de la préparation des réactifs vers le DKA. Les échantillons, le matériel et les réactifs ne doivent pas être ramenés là où une étape précédente a été effectuée. De la même manière, le personnel ne devra pas retourner dans les zones de travail des étapes précédentes sans s'entourer de précautions adéquates pour éviter toute contamination.

Recommandations concernant les échantillons

- K. Cette méthode a été testée en utilisant uniquement des échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, des échantillons vaginaux sur écouvillon et des échantillons d'urine masculins et féminins. La performance avec des échantillons autres que ceux spécifiés dans la section *Collecte et conservation des échantillons* n'a pas été évaluée.

Les laboratoires peuvent valider d'autres dispositifs de collecte (21, 23).

Les échantillons gynécologiques collectés pour être préparés avec le système ThinPrep 2000 devraient être collectés uniquement au moyen de dispositifs de type balai ou brosse/spatule en plastique endocervicaux.

- L. Les dates de péremption figurant sur les kits de collecte concernent le site de collecte, et non l'établissement effectuant les tests. Les échantillons collectés avant la date de péremption du kit de collecte, puis transportés et conservés conformément à la notice du test, sont valides pour être testés même si la date de péremption du tube de collecte est dépassée.
- M. La solution PreservCyt a été validée comme milieu de remplacement pour les analyses effectuées avec le test Combo 2 Aptima. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt traités avec le processeur ThinPrep 3000 ou d'autres instruments n'ont pas été évalués pour la détection de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* au moyen du test Aptima Combo 2.
- N. Une fois l'urine versée dans le tube de transport d'urine, le niveau de liquide de ce tube doit se situer entre les deux lignes indicatrices noires sur l'étiquette du tube. Dans le cas contraire, l'échantillon doit être rejeté.
- O. Observer des conditions de conservation adéquates pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.

- P. Les échantillons peuvent être infectieux. Respecter les précautions universelles lors de la réalisation de ce test. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates. Seul le personnel ayant reçu une formation adéquate pour manipuler des substances infectieuses devrait être autorisé à effectuer cette procédure de diagnostic.
- Q. Éviter toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veiller à éviter tout contact entre les différents récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changer de gants en cas de contact avec l'échantillon.
- R. Si le laboratoire reçoit un tube de transport d'échantillons sur écouvillon ne contenant pas d'écouvillon ou contenant deux écouvillons, un écouvillon de nettoyage ou un écouvillon non fourni par Hologic, l'échantillon doit être rejeté. Avant de rejeter un tube de transport d'échantillons ne contenant pas d'écouvillon, vérifier qu'il ne s'agit pas d'un tube de transfert d'échantillons Aptima® étant donné que ce type de tube ne contient pas d'écouvillon.
- S. Dans le cas des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, effectuer leur collecte conformément aux instructions du fabricant. Les aliquotes qui ont été retirées ultérieurement du flacon PreservCyt pour être analysées au moyen du test Aptima Combo 2 doivent être traitées en utilisant uniquement le kit de transfert d'échantillons Aptima.
- T. Si le bouchon d'un tube de transport Aptima venait à être perforé, le liquide pourrait s'écouler sous certaines conditions. Suivre les instructions de la *Procédure de test* appropriée afin d'éviter cette situation.

Recommandations concernant les tests

- U. Le rendement des échantillons collectés à l'aide d'un écouvillon vaginal n'a pas été évalué chez les femmes enceintes.
- V. Le rendement des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt n'a pas été évalué chez les adolescents de moins de 16 ans.
- W. Ne pas utiliser ce kit après la date de péremption.
- X. **Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs** de kits portant différents numéros de lot. Il est possible d'utiliser les témoins et les solutions provenant de kits Aptima portant différents numéros de lot.

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

- Y. Des embouts de pipette munis de filtres hydrophobes doivent être utilisés. Au moins deux pipeteurs à répétition doivent être dédiés à une utilisation pour ce test : un premier pour les étapes de capture de cible et d'amplification, et un deuxième pour les étapes du DKA. Deux micro-pipeteurs doivent être réservés à une utilisation pour ce test : un premier pour le transfert des échantillons et un deuxième pour la préparation des réactifs. Tous les pipeteurs doivent être régulièrement nettoyés conformément aux instructions indiquées sous *Procédure de test à l'aide des DTS Systems, Remarques concernant la procédure*.
- Z. Si des pipeteurs à répétition sont utilisés pour ajouter des réactifs, ne pas toucher le tube avec l'embout de la pipette afin d'éviter toute contamination d'un tube à l'autre.
- AA. Un mélange adéquat est nécessaire pour obtenir des résultats de test précis. Pour de plus amples détails, consulter *Procédure de test à l'aide des DTS Systems, Remarques concernant la procédure*.
- AB. Réserver des bains-marie distincts aux étapes de capture de cible, d'amplification et du DKA lors du test.
- AC. Les cartes de protection doivent être jetées dans le récipient à déchets immédiatement après avoir été retirées des tubes réactionnels. Des cartes de protection neuves doivent toujours être utilisées; elles ne doivent jamais être réutilisées d'une étape à l'autre. Les cartes de protection doivent être fermement apposées sur le dessus de tous les tubes de réaction.

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

- A. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C (réfrigérés) :
- Réactif d'amplification Aptima Combo 2
 - Réactif enzymatique Aptima Combo 2
 - Réactif-sonde Aptima Combo 2
 - Réactif de capture de cible B Aptima Combo 2
 - Témoin positif CT/témoin négatif GC Aptima
 - Témoin positif GC/témoin négatif CT Aptima
- B. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C :
- Solution de reconstitution de l'amplification Aptima Combo 2
 - Solution de reconstitution enzymatique Aptima Combo 2
 - Solution de reconstitution de sonde Aptima Combo 2
 - Réactif de sélection Aptima Combo 2
- C. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 15 °C et 30 °C (température ambiante) :
- Réactif de capture de cible
 - Solution de lavage Aptima
 - Tampon Aptima pour solution de désactivation
 - Réactif huileux Aptima

- D. La préparation de réactif de capture de cible (wTCR) est stable pendant 30 jours lorsqu'elle est conservée entre 15 °C et 30 °C. Ne pas réfrigérer.
- E. Une fois reconstitués, le réactif enzymatique, le réactif d'amplification et le réactif-sonde restent stables pendant 30 jours s'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C.
- F. Jeter tout réactif reconstitué et wTCR non utilisé au bout de 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence si celle-ci survient avant.
- G. Les témoins sont stables jusqu'à la date indiquée sur les flacons.
- H. Si des réactifs sont conservés en restant intégrés dans le Tigris DTS System, leur stabilité intégrée ne dépassera pas 48 heures.
- I. Les réactifs chargés dans le Panther System sont stables pendant 72 heures une fois chargés.
- J. Le réactif-sonde et le réactif-sonde reconstitué sont photosensibles. Conserver les réactifs à l'abri de la lumière. La stabilité reconstituée indiquée est basée sur une exposition de 12 heures du réactif-sonde reconstitué à deux ampoules fluorescentes de 60 W situées à 43 cm (17 po) de distance et à une température inférieure à 30 °C. L'exposition du réactif-sonde reconstitué à la lumière doit être limitée en conséquence.
- K. Lorsqu'ils parviennent à température ambiante, certains tubes de solution témoin peuvent être troubles ou contenir des précipités. La turbidité ou la précipitation associée à ces témoins n'a aucune influence sur leur rendement. Les témoins peuvent être utilisés peu importe qu'ils soient limpides ou troubles/précipités. Si l'on souhaite travailler avec des contrôles limpides, il est possible d'accélérer la solubilisation en les incubant aux valeurs maximales de la plage de température ambiante (15 °C à 30 °C).
- L. Ne pas congeler les réactifs.**

Collecte et conservation des échantillons

Le Test Aptima Combo 2 est conçu pour détecter la présence de CT et de GC dans les échantillons endocervicaux et urétraux masculins collectés à l'aide d'un écouvillon, les échantillons vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, et les échantillons d'urine masculins et féminins. Le rendement du test sur des échantillons autres que ceux collectés à l'aide des kits de collecte d'échantillons suivants n'a pas été évalué :

- Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon
- Kit de collecte d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins
- Kit de collecte d'échantillons – écouvillon vaginal Aptima
- Le kit de transfert d'échantillons Aptima (pour les échantillons gynécologiques collectés dans la solution PreservCyt)
-

A. Instructions de collecte :

Consulter la notice du test correspondant au kit de collecte d'échantillons utilisé pour les instructions concernant le prélèvement.

B. Transport et conservation des échantillons avant le test :

1. Échantillons sur écouvillon :
 - a. Une fois l'échantillon collecté à l'aide d'un écouvillon, le transporter et le conserver dans le tube de transport d'échantillons sur écouvillon entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons doivent être testés avec le Test Aptima Combo 2 dans les 60 jours qui suivent leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congeler entre -20 °C et -70 °C pendant 12 mois maximum après leur collecte (voir *Études de la stabilité des échantillons*).
 2. Échantillons d'urine :
 - a. Les échantillons d'urine qui sont encore dans le récipient de collecte principal doivent être transportés au laboratoire à une température de 2 °C à 30 °C. Transférer l'échantillon d'urine dans le tube de transport pour échantillons d'urine Aptima dans les 24 heures qui suivent sa collecte. Conserver entre 2 °C et 30 °C et tester dans les 30 jours qui suivent la collecte.
 - b. Une fois collectés, transporter les échantillons d'urine traités dans le tube de transport pour échantillons d'urine Aptima entre 2 °C et 30 °C et conserver le tube entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons d'urine traités doivent être testés avec le Test Aptima Combo 2 dans les 30 jours qui suivent le prélèvement. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congeler entre -20 °C et -70 °C pendant 12 mois maximum après la collecte (voir *Études de la stabilité des échantillons*).
 3. Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt :
 - a. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt destinés aux tests CT et/ou GC doivent être utilisés, en ce qui concerne la cytologie et/ou transférés dans un tube de transfert d'échantillon Aptima, dans les 30 jours qui suivent leur collecte lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C (voir *Études de la stabilité des échantillons*).
 - b. Si la procédure de retrait d'une aliquote ThinPrep est utilisée, se référer au *Manuel de l'utilisateur du processeur ThinPrep 2000 ou ThinPrep 3000 - Addendum (ThinPrep 2000 ou ThinPrep 3000 Processor Operator's Manual - Addendum)* pour obtenir des renseignements sur la procédure de retrait d'une aliquote. Transférer 1 mL de l'aliquote collectée dans un tube de transfert d'échantillon Aptima conformément à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima.
 - c. En cas de test de l'échantillon après son traitement avec le système ThinPrep 2000, traiter l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt conformément au *Manuel de l'utilisateur du processeur ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* et à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima. Transférer 1 mL du liquide restant dans le flacon de solution PreservCyt dans un tube de transfert d'échantillon Aptima conformément à la notice de test du kit de transfert d'échantillons Aptima.
 - d. Une fois l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt transféré dans le tube de transfert d'échantillon Aptima, il doit être testé avec le test Aptima Combo 2 dans les 30 jours s'il est conservé entre 2 °C et 8 °C ou dans les 14 jours s'il est conservé entre 15 °C et 30 °C. Si une durée de conservation plus longue est nécessaire, congeler l'échantillon entre -20 °C et -70 °C jusqu'à 12 mois maximum après son transfert (voir *Études de la stabilité des échantillons*).
- C. Conservation des échantillons après les tests :
1. Les échantillons qui ont été testés doivent être rangés dans un portoir en position verticale.

2. Les tubes de transport d'échantillons doivent être recouverts d'une nouvelle pellicule de film plastique ou d'aluminium propre.
3. Si certains des échantillons testés doivent être congelés ou envoyés, retirer les bouchons pénétrables et placer de nouveaux bouchons non pénétrables sur les tubes de transport d'échantillons. Si les échantillons doivent être expédiés dans un autre établissement pour y être testés, les températures recommandées doivent être maintenues. Avant de déboucher et de reboucher des échantillons qui ont déjà été testés, les tubes de transport d'échantillons doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour faire descendre la totalité du liquide au fond du tube. **Éviter les projections et la contamination croisée.**

Remarque : Les échantillons doivent être envoyés conformément aux réglementations nationales et internationales applicables relatives au transport.

DTS Systems

Les réactifs du Test Aptima Combo 2 pour CT et GC sont indiqués ci-dessous pour les DTS Systems. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériel fournis

Remarque : Pour obtenir des informations sur les mentions de danger et de mise en garde qui pourraient être associées à ces réactifs, consultez la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches techniques de sécurité) à l'adresse www.hologic.com/sds.

Kit de tests Aptima Combo 2, 100 tests (2 boîtes) (N° de référence 301032)

Boîte réfrigérée Aptima Combo 2 (Boîte 1 de 2)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification Aptima Combo 2 <i>Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique Aptima Combo 2 <i>Transcriptase inverse et RNA polymérase déshydratées dans une solution tamponnée de HEPES contenant < 10 % de diluant.</i>	1 flacon
P	Réactif-sonde Aptima Combo 2 <i>Sondes de DNA chimioluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon
TCR-B	Réactif de capture de cible B Aptima Combo 2 <i>Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 0,35 mL
PCT/NGC	Témoin positif CT/témoin négatif GC Aptima <i>Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL
PGC/NCT	Témoin positif GC/témoin négatif CT Aptima <i>Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 50 cellules de GC (250 fg/test*).</i>	3 x 1,7 mL

*Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

La boîte réfrigérée comprend également les articles suivants (plateau de stockage) :
(à conserver entre 2 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	Solution de reconstitution de l'amplification Aptima Combo 2 <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 9,3 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique Aptima Combo 2 <i>Solution tamponnée de HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 3,3 mL
PR	Solution de reconstitution de sonde Aptima Combo 2 <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 12,4 mL
S	Réactif de sélection Aptima Combo 2 <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 x 31 mL
	Collets de reconstitution	3
	Cartes de protection	1 paquet

Boîte à température ambiante Aptima Combo 2 (Boîte 2 de 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
TCR	Réactif de capture de cible Aptima Combo 2 <i>Solution saline tamponnée contenant des oligomères de capture en phase solide.</i>	1 x 22 mL
W	Solution de lavage Aptima <i>Solution tamponnée de HEPES à 10 mM contenant < 2 % de détergent.</i>	1 x 402 mL
DF	Tampon Aptima pour solution de désactivation <i>Solution tamponnée de bicarbonate à 800 mM.</i>	1 x 402 mL
O	Réactif huileux Aptima <i>Huile de silicone.</i>	1 x 24,6 mL

Matériel requis mais vendu séparément

Remarque: Les références du matériel vendu par Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

	<u>N° de référence</u>
Luminomètre Leader HC+	104747-01
Système de capture de cible (Target Capture System, TCS) Hologic	104555
Incubateurs et vortexeurs :	
2 vortexeurs multi-tubes	102160
3 bains-marie circulateurs (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	104586
3 séparateurs pour bain-marie	104627
OU	
2 bains à chaleur sèche/vortexeurs SB100	105524
Des bains SB100 supplémentaires peuvent être nécessaires si le volume de tests augmente	
Kit Auto Detect Aptima	301048
2 pipeteurs à répétition Repeater Plus eppendorf	105725
2 pipeteurs, 1 000 µL RAININ PR1000	901715
Pipeteur eppendorf 20 µL à 200 µL	105726
Embouts pour pipeteur à répétition, 2,5 mL	21-381-329
Embouts pour pipeteur à répétition, 5,0 mL	21-381-330
Embouts pour pipeteur à répétition, 25,0 mL	21-381-115
Embouts, style P1000	105049
<i>embout de diamètre spécial vendu uniquement par Hologic</i>	
Embouts de pipette de 20 µL à 200 µL	705512 (Fisher)
Unités de dix tubes (Ten Tube Units, TTU)	TU0022
Cassette de dix embouts (Ten Tip Cassettes, TTC)	104578
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon vaginal Aptima	301162
Kit de transfert d'échantillons Aptima	301154C
Solution étalon SysCheck	301078
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Récipients standard pour la collecte d'urine, sans conservateurs	—

	<u>N° de référence</u>
Récipient en plastique à grand couvercle	—
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A

Matériel optionnel

	<u>N° de référence</u>
Rehausseur d'eau de Javel Hologic pour le nettoyage <i>pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils</i>	302101
Kit de témoins Aptima	301110
Solutions Aptima <i>(Solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima)</i>	302002C
Panel de références d'ITS	102325
Embouts, 1 000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4	900932
<i>Platine Aptima Combo 2 pour DTS Systems 800 Platine</i>	<i>105200</i>
<i>Réservoir à réactif (quart de module de 40 mL)</i>	<i>104765</i>
<i>Réservoir à réactif divisé en deux (quart de module de 19 mL x 2)</i>	<i>104763</i>

Procédure de test à l'aide des DTS Systems

A. Préparation du matériel

1. Préparer un premier bain-marie à $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (pour la capture de cible et l'hybridation des amorces), un second bain-marie à $42\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (pour l'amplification), et un troisième à $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (pour le test DKA). Si le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100® (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer) est utilisé, consulter la *fiche d'application du bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (fiche d'application SB100)*.
2. Avant d'entreprendre le test, nettoyer les plans de travail et les pipeteurs à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces et des pipeteurs pendant au moins 1 minute, puis rincer à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrir la surface de la paillasse sur laquelle le test sera effectué avec des protections de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.
3. Placer un nombre suffisant de cassettes de dix embouts dans le système de capture de cible (Target Capture System, TCS). Vérifier que la bouteille de solution de lavage du TCS est remplie de solution de lavage Aptima et que la rampe d'aspiration est branchée sur la pompe à vide. (Se référer au *Manuel de l'utilisateur du système de capture de cible [Target Capture System Operator's Manual]*.)

B. Reconstitution des réactifs

Remarque : La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre le transfert des échantillons.

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde, combiner les flacons de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laisser leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
 - a. Mettre la solution de reconstitution appropriée avec le réactif lyophilisé. Les étiquettes ont différents codes de couleur afin de pouvoir les associer correctement.
 - b. Ouvrir le flacon de réactif lyophilisé et insérer fermement l'extrémité du collet de reconstitution présentant une encoche dans l'ouverture du flacon (Figure 1, Étape 1).
 - c. Ouvrir la bouteille de solution de reconstitution correspondante et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérer fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 1, Étape 2).
 - e. Inverser lentement l'assemblage bouteille/flacon. Laisser la solution s'écouler depuis la bouteille dans le flacon (Figure 1, Étape 3).
 - f. Remuer délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Éviter de faire de la mousse dans le flacon pendant cette manipulation (Figure 1, Étape 4).
 - g. Attendre que le réactif lyophilisé se mêle à la solution, puis retourner à nouveau l'assemblage bouteille/flacon en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 1, Étape 5). Laisser tout le liquide s'écouler dans la bouteille.
 - h. Retirer le collet de reconstitution de la bouteille (Figure 1, Étape 6).
 - i. Reboucher la bouteille. Noter les initiales de l'utilisateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 1, Étape 7).
 - j. Jeter le collet de reconstitution et le flacon (Figure 1, Étape 8).

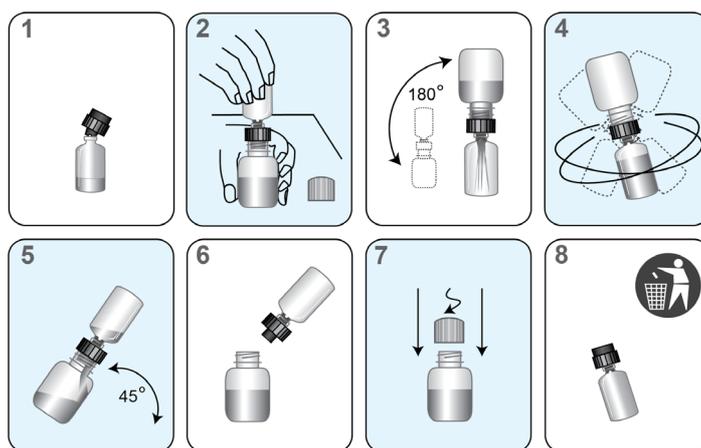


Figure 1. Processus de reconstitution pour les DTS Systems

2. Le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde préalablement reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test. Si le réactif-sonde contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, le chauffer à 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cette étape de chauffage, le réactif-sonde peut être utilisé même s'il reste un précipité résiduel. Après la remise en suspension, mélanger doucement par retournement en veillant à ne pas former de mousse.

Remarque: Ces retournements devraient être effectués chaque fois qu'un précipité se forme dans la solution, que ce soit par chauffage à 62 °C ou par réchauffement à température ambiante.

3. Préparation de la solution de réactif de capture de cible (wTCR)
 - a. Transférer 20 mL de TCR dans un récipient propre et sec de la taille appropriée et réservé à cet effet.
 - b. À l'aide d'un micro-pipeteur, ajouter 200 µL de TCR-B au TCR.
 - c. Faire tourner la solution pour bien la mélanger.
 - d. Mettre une étiquette sur ce récipient. Noter les initiales de l'utilisateur, la date de préparation et les deux numéros de lot.

Remarque: Pour un petit nombre de réactions (échantillons et contrôles), utiliser la formule suivante pour calculer les volumes de TCR et TCR-B :

Volume du TCR (mL) = (nombre de réactions + 5 réactions supplémentaires) x 0,1 mL

Volume du TCR-B (mL) = Volume du TCR (mL)/100

C. Capture de cible

Le pipeteur à répétition utilisé pour la capture de cible et l'amplification doit être réservé à ces étapes uniquement. Voir *Avertissements et précautions* pour de plus amples renseignements.

Installation des portoirs

1. Laisser les témoins ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
3. Confirmer visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
 - a. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
 - b. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon vaginal.
 - c. Volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
 - d. Absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Vérifier les tubes de transport avant de les perforer :
 - a. Si un tube de transport contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.

- b. Si le tube de transport présente un volume inférieur à celui généralement obtenu et que les instructions de collecte ont été respectées, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.
- c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.
- d. Si un échantillon d'urine contient un précipité, chauffer l'échantillon à 37 °C jusqu'à 5 minutes. Si le précipité ne se dissout pas, vérifier visuellement qu'il ne nuit pas à l'obtention de l'échantillon.

Remarque: *Le non-respect des étapes 4a à c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.*

5. Si des échantillons munis de bouchons standard (non pénétrables) sont testés, ils doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour que la totalité du liquide s'écoule au fond du tube avant de les déboucher. **Éviter les projections et la contamination croisée.**
6. Placer un nombre suffisant d'unités de dix tubes (Ten Tube Unit, TTU) pour les témoins et les échantillons dans le portoir pour unités de dix tubes (TTU).
7. Si l'on désire établir une liste de travail, en créer une à ce moment-là. Pour créer une liste de travail, consulter le *Manuel de l'utilisateur du logiciel de test Aptima* (Aptima Assay Software Operator's Manual).
8. Mélanger à fond la solution wTCR. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 100 µL dans chaque tube réactionnel.
9. Pour utiliser le logiciel de test Aptima comme il se doit, le contrôle positif CT/contrôle négatif GC doit être placé dans la première position de la première TTU.
 - a. Tenir le tube de contrôle positif CT/contrôle négatif GC dans une main ou le laisser dans un portoir. L'étiquette de ce contrôle est rose. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + CT PCT/CONTROL – GC NGC ». À l'aide d'un micro-pipeteur, perforer le bouchon en veillant à ne pas enfoncer l'embout au fond du tube. Ajouter 400 µL de contrôle positif CT/contrôle négatif GC dans le premier tube de réaction.
 - b. En procédant de la même manière et à l'aide d'un nouvel embout de pipette, ajouter 400 µL de contrôle positif GC/contrôle négatif CT au second tube de réaction. L'étiquette de ce second contrôle est bleu-vert. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + GC PGC/CONTROL – CT NCT ».
10. Continuer la préparation du portoir en ajoutant 400 µL à chaque échantillon dans les tubes de réaction restants. Utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon et chaque témoin. Le volume d'échantillon ou de contrôle pouvant être ajouté à un tube réactionnel est de 400 µL ± 100 µL. Voir *Remarques concernant la procédure, Pipetage des témoins et des échantillons* pour des renseignements supplémentaires.

Capture de cible

L'utilisation du système de capture de cible (Target Capture System) Hologic® est décrite dans le *Manuel de l'utilisateur du système de capture de cible* (Target Capture System Operator's Manual). Si le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer) est utilisé, consulter la *fiche d'application du SB100*.

11. Couvrir les TTU de cartes de protection et agiter délicatement le portoir manuellement. **Ne pas vortexer.** Incuber le portoir à 62 °C ± 1 °C dans un bain-marie pendant 30 ± 5 minutes.
12. Retirer le portoir du bain-marie et sécher le fond des tubes sur un matériau absorbant.

13. Vérifier que les cartes de protection sont fermement positionnées. Au besoin, les remplacer par de nouvelles cartes de protection et fermer hermétiquement les TTU.
14. Vortexer le portoir pendant 60 secondes sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes). Consulter *Remarques concernant la procédure, Agitation au vortex* pour de plus amples détails. Commencer l'agitation au vortex du portoir dans les 2 minutes qui suivent son retrait du bain-marie.
15. Sans retirer les cartes de protection, incuber le portoir à température ambiante pendant 30 ± 5 minutes.
16. Placer le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 5 à 10 minutes.
17. Amorcer la conduite de la pompe du poste de distribution en pompant la solution de lavage Aptima dans la rampe de distribution. Pomper une quantité suffisante de liquide dans le système afin qu'il ne reste aucune bulle d'air dans la tubulure et que les dix têtes distribuent un flux régulier de liquide.
18. Mettre la pompe à vide en marche et débrancher la rampe d'aspiration du premier connecteur situé entre la rampe d'aspiration et le flacon piège. S'assurer que la jauge de vide satisfait les spécifications du test de fuite.² Il est possible que 15 secondes soient nécessaires pour obtenir une lecture. Rebrancher la rampe d'aspiration et vérifier que la jauge de dépression soit conforme à la spécification du niveau de dépression. Ne pas éteindre la pompe à vide avant que toutes les étapes de la capture de cible soient terminées et que la tubulure de la rampe d'aspiration soit sèche.
19. Fixer fermement la rampe d'aspiration au premier jeu d'embouts. Aspirer tout le liquide en abaissant les embouts dans la première TTU jusqu'à ce qu'ils touchent brièvement le fond des tubes. Ne pas maintenir les embouts en contact avec le fond des tubes.
20. Une fois l'aspiration terminée, éjecter les embouts dans leur TTC d'origine. Recommencer les étapes d'aspiration pour les TTU restantes en utilisant un embout dédié par échantillon.
21. Placer la rampe de distribution sur chaque TTU et, à l'aide de la pompe du poste de distribution, verser 1,0 mL de solution de lavage Aptima dans chacun des tubes de la TTU.
22. Couvrir les tubes d'une carte de protection et retirer le portoir de la base magnétique du TCS. Vortexer le portoir une fois sur le vortexeur multi-tubes. Consulter *Remarques concernant la procédure, Agitation au vortex* pour de plus amples détails.
23. Placer le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 5 à 10 minutes.
24. Aspirer tout le liquide comme aux Étapes 19 et 20.
25. Après l'aspiration finale, retirer le portoir de la base magnétique du TCS et inspecter visuellement les tubes pour vérifier que le liquide a été totalement aspiré et que tous les tubes contiennent un culot de particules magnétiques. S'il reste visiblement du liquide, remettre le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 2 minutes et refaire l'aspiration pour cette TTU en utilisant les mêmes embouts que ceux utilisés précédemment avec chaque échantillon.

Remarque : Si un culot de particules magnétiques est visible une fois l'aspiration terminée, le tube peut être accepté. Si aucun culot n'est visible, l'échantillon doit être testé à nouveau. Si le même échantillon ne contient pas de culot de particules magnétiques à cette étape lors d'une série ultérieure, cela peut indiquer un problème lié à l'échantillon. Il est alors recommandé d'effectuer une nouvelle collecte de l'échantillon.

² Consulter la Fiche des spécifications de dépression du système de capture située au verso du *Manuel de l'utilisateur du système de capture de cible* (Target Capture System Operator's Manual) ou communiquer avec le Service technique.

D. Amplification

Si le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer) est utilisé, consulter la *fiche d'application du SB100*.

1. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 75 µL de réactif d'amplification reconstitué dans chaque tube de réaction. Tous les mélanges réactionnels du portoir devraient maintenant avoir une teinte rouge.
2. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 200 µL de réactif huileux dans chaque tube de réaction.
3. Couvrir les tubes d'une carte de protection et les vortexer sur le vortexeur multi-tubes.
4. Incuber le portoir à 62 °C ± 1 °C dans un bain-marie pendant 10 ± 5 minutes.
5. Transférer le portoir dans un bain-marie à 42 °C ± 1 °C et incuber pendant 5 ± 2 minutes.
6. Une fois le portoir dans le bain-marie, retirer soigneusement la carte de protection et, à l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 25 µL du réactif enzymatique reconstitué dans chaque tube de réaction. Tous les mélanges réactionnels devraient maintenant avoir une teinte orange.
7. Couvrir immédiatement les tubes d'une nouvelle carte de protection, retirer le portoir du bain-marie et mélanger les tubes de réaction en agitant délicatement le portoir manuellement.
8. Incuber le portoir à 42 °C ± 1 °C dans un bain-marie pendant 60 ± 15 minutes.

E. Double test cinétique (Dual Kinetic Assay, DKA)

Si le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer) est utilisé, consulter la *fiche d'application du SB100*.

Le pipeteur à répétition utilisé pour l'hybridation et la sélection doit être réservé à ces étapes uniquement. Voir *Avertissements et précautions*.

1. Hybridation

- a. Retirer le portoir du bain-marie et le transférer dans la zone de test DKA. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 100 µL du réactif-sonde reconstitué dans chaque tube de réaction. Tous les mélanges réactionnels devraient maintenant avoir une teinte jaune.
- b. Couvrir les tubes d'une carte de protection et vortexer le portoir sur le vortexeur multi-tubes.
- c. Incuber le portoir dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 20 ± 5 minutes.
- d. Retirer le portoir du bain-marie et laisser incuber à température ambiante pendant 5 ± 1 minutes.

2. Sélection

- a. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 250 µL de réactif de sélection dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels devraient maintenant avoir une teinte rouge.
- b. Couvrir les tubes avec une carte de protection, vortexer le portoir pendant 10 secondes ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme, puis l'incuber dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 10 ± 1 minutes.
- c. Retirer le portoir du bain-marie.

3. Détection

La détection doit être effectuée entre 18 °C et 28 °C.

- a. Incuber le portoir entre 18 °C et 28 °C pendant 15 ± 3 minutes.

Remarque : Cette plage de température est indispensable pour le rendement du test.

- b. Pour utiliser le luminomètre Leader HC+ et le logiciel de test Aptima, consulter le *Manuel de l'utilisateur du luminomètre Leader HC+* (Leader HC+ Luminometer Operator's Manual) ainsi que le *Manuel de l'utilisateur du logiciel de test Aptima* (Aptima Assay Software Operator's Manual).
- c. Vérifier que les volumes d'Auto Detect 1 et d'Auto Detect 2 sont suffisants pour procéder aux tests.
- d. Préparer le luminomètre Leader HC+ en plaçant une TTU vide dans la position de cassette numéro 1 et effectuer le protocole **Wash** (Lavage).
- e. Charger les TTU dans le luminomètre.
- f. Se connecter à l'ordinateur. Cliquer sur **New Run** (nouvelle série), choisir le protocole de test **Aptima Combo 2** puis entrer le nombre de tubes (contrôles et échantillons). Cliquer sur **Next** (suivant) pour commencer la série.

Remarque : La série doit être complétée dans les 2 heures qui suivent la fin de l'incubation de l'étape de sélection.

- g. Préparer une solution de désactivation en mélangeant un volume équivalent d'hypochlorite de sodium dosé de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M) et de tampon Aptima pour solution de désactivation dans un récipient en plastique à grand couvercle. Mettre une étiquette et inscrire la date de péremption sur le récipient en plastique. La solution de désactivation est stable pendant 4 semaines à température ambiante. Jeter la solution de désactivation une fois les 4 semaines écoulées ou après avoir désactivé 100 échantillons traités (si cela survient avant).
- h. Après avoir retiré les TTU utilisées du luminomètre, les placer dans le récipient de solution de désactivation. Laisser les TTU dans le récipient pendant 15 minutes avant de les jeter. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates.

Remarques concernant la procédure

A. Témoins

Pour utiliser le logiciel de test Aptima comme il se doit, le contrôle positif CT/contrôle négatif GC doit être placé dans la première position de la première TTU. L'étiquette de ce témoin est rose. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + CT PCT/CONTROL – GC NGC ». Le contrôle positif GC/contrôle négatif CT doit être placé dans la seconde position de la première TTU. Le témoin porte une étiquette bleu-vert. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + GC PGC/CONTROL – CT NCT ». S'ils sont placés dans la mauvaise position, la série échouera. Tout témoin supplémentaire doit être entré en tant qu'échantillon de patient et l'utilisateur doit veiller à ce qu'il soit acceptable.

B. Pipetage des témoins et des échantillons

Le volume de témoin ou d'échantillon ajouté au tube de réaction doit être de $400 \mu\text{L} \pm 100 \mu\text{L}$. Il est recommandé d'inspecter visuellement le volume pipeté dans le tube de réaction pour veiller à ce que le volume transféré soit adéquat. Le volume de témoin ou d'échantillon doit être adéquat pour obtenir des résultats précis. Si le volume pipeté est incorrect, pipeter à nouveau la solution wTCR ainsi que le contrôle ou l'échantillon dans un nouveau tube de réaction.

C. Réactifs

La solution de reconstitution de sonde peut précipiter pendant la conservation. Si tel est le cas, chauffer la solution de reconstitution de sonde à $62 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 1 à 2 minutes. Après cette étape, la solution de reconstitution de sonde peut être utilisée, même s'il reste un précipité résiduel. Après la remise en suspension, mélanger délicatement le flacon par retournement en veillant à ne pas former de mousse.

D. Température

1. Les étapes de capture de cible, d'amplification, d'hybridation et de sélection dépendent de la température. Il est donc impératif que les bains-marie soient maintenus dans des plages de température précises.
2. La température ambiante est définie comme se situant entre $15 \text{ }^\circ\text{C}$ et $30 \text{ }^\circ\text{C}$.
3. Les étapes de détection du test doivent être effectuées entre $18 \text{ }^\circ\text{C}$ et $28 \text{ }^\circ\text{C}$.

E. Durée

Les réactions de capture de cible, d'amplification, d'hybridation et de sélection sont toutes fonction du temps écoulé. Respecter les durées indiquées dans la *Procédure de test à l'aide des DTS Systems*.

F. Agitation au vortex

La qualité de l'agitation au vortex est importante pour assurer la bonne performance du test Aptima Combo 2. Si l'agitation au vortex est effectuée de manière adéquate, la suspension tourne à une vitesse capable de faire monter la solution dans la moitié supérieure du tube. Cette manipulation (agitation au vortex) est maintenue pendant une durée précise. Pour vortexer des réactions, régler la vitesse du vortexeur multi-tubes sur le réglage le plus bas, fixer solidement le portoir en place et mettre le vortexeur en marche. Augmenter lentement la vitesse jusqu'à ce que le liquide atteigne la moitié supérieure du tube. Vortexer pendant 10 secondes, la durée recommandée, ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme. Ensuite, tourner la vitesse sur le réglage le plus bas avant d'éteindre le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes) et de retirer le portoir. Les mélanges réactionnels ne doivent jamais toucher les cartes de protection.

G. Bains-marie

1. Le niveau d'eau des bains-marie doit avoir une profondeur de 3,8 cm à 5 cm (1,5 po à 2,0 po) depuis le plateau de support métallique (fond du bain-marie) à la surface de l'eau. Cette précaution permettra d'assurer un transfert de chaleur adéquat.
2. Pour éviter toute contamination croisée, les bains-marie doivent être réservés à une étape précise du test.

H. Décontamination

1. Surfaces et pipeteurs

Les surfaces des paillasses de laboratoire et les pipeteurs doivent être décontaminés régulièrement à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincer à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Les solutions à base de chlore peuvent piquer le métal et le matériel. Rincer soigneusement le matériel à l'eau pour éviter toute piqûre de corrosion.

2. Rampe d'aspiration du TCS

- a. Placer une nouvelle TTC dans le portoir de TTC. Mettre la pompe à vide en marche. Fixer la rampe d'aspiration aux embouts de la TTC. Aspirer toute la solution de lavage restant dans la cuve d'amorçage du poste de distribution de solution de lavage. (Placer la rampe de distribution de façon à ce qu'elle ne gêne pas.)
- b. Verser au moins 100 mL de solution d'hypochlorite de sodium dosée de 0,5 % à 0,7 % (0,07 M à 0,1 M) ou, si vous le préférez, dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M) dans la cuve d'amorçage. Aspirer toute la solution au moyen de la rampe d'aspiration.
- c. Verser au moins 100 mL d'eau désionisée dans la cuve d'amorçage. Aspirer toute l'eau au moyen de la rampe d'aspiration.
- d. Éjecter les embouts dans leur TTC d'origine.
- e. Laisser fonctionner la pompe d'aspiration jusqu'à ce que la tubulure de la rampe soit sèche pour éviter tout refoulement.
- f. Décontaminer les surfaces de la rampe d'aspiration de la façon décrite sous *Appareil TCS*.

3. Récipient à déchets du TCS

Retirer le flacon à déchets du système de capture de cible (Target Capture System) une fois par semaine ou lorsqu'il est rempli à 25 %.

- a. Éteindre la pompe à vide et laisser sa pression s'équilibrer.
- b. Débrancher les raccords à déconnexion rapide entre le flacon à déchets et le flacon de trop-plein, ainsi que le flacon à déchets et la rampe d'aspiration.
- c. Retirer le flacon à déchets du boîtier de piège à vide.
- d. Retirer le bouchon et ajouter avec précaution 400 mL de solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M) dans le flacon (ou 1 L si un flacon à déchets de 10 L est utilisé).

Remarque: Cette manipulation peut être effectuée sous une hotte pour éviter de libérer des émanations dans le laboratoire.

- e. Reboucher le flacon à déchets et faire tourner délicatement le contenu jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.

- f. Laisser le flacon à déchets reposer pendant 15 minutes, puis jeter le contenu (déchets).
- g. Rincer le flacon à déchets à l'eau pour éliminer tout résidu éventuel.
- h. Reboucher le flacon vide et le mettre dans le boîtier du piège à vide. Fixer le raccord à déconnexion rapide sur l'appareil TCS. Jeter avec précaution les deux gants.

4. Appareil TCS

Essuyer les surfaces de l'appareil TCS, la rampe d'aspiration et la surface des embouts d'éjection du tampon de lavage avec des serviettes en papier humidifiées à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Faire suivre l'étape de javellisation par un rinçage à l'eau, puis sécher complètement les surfaces avec des serviettes en papier.

5. Portoirs

Submerger les portoirs dans une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M) en veillant à ce qu'ils soient recouverts par la solution d'hypochlorite de sodium. Maintenir les portoirs immergés pendant 10 minutes. Toute exposition plus longue endommagerait les portoirs. Rincer soigneusement les portoirs à l'eau et les placer sur un tampon absorbant propre avant de les laisser sécher parfaitement à l'air libre. Pour prolonger la durée de vie des portoirs, les faire sécher debout, et non inversés.

I. Contamination des tests

1. L'introduction de substances contaminantes peut survenir si le protocole de test n'est pas rigoureusement respecté.
2. Les TTU doivent être décontaminées dans une solution de désactivation de la façon décrite sous *Détection*. Ne pas réutiliser les TTU.
3. Effectuer une décontamination régulière du matériel et des surfaces de travail de la façon décrite sous *Remarques concernant la procédure, Décontamination*.
4. Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

J. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour les DTS Systems

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et des procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon :

1. Marquer les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirer l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifier l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonner la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Insérer immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport.
4. Casser délicatement la tige de l'écouvillon sur la rainure en évitant toute projection du contenu.

5. Reboucher hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Refaire les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.
7. Tester l'écouvillon à l'aide du test Aptima Combo 2 selon la *Procédure de test à l'aide des DTS Systems*.

Si les résultats sont positifs ou équivoques pour CT ou GC (voir *Interprétation du test – CQ/Résultats patients*), la surface peut être contaminée et doit alors être décontaminée avec la solution d'hypochlorite de sodium selon les recommandations indiquées dans *Procédure de test à l'aide des DTS Systems, Préparation du matériel*.

Remarque : Si l'on soupçonne le bain-marie d'être contaminé, il est possible de le tester en suivant la procédure de test des échantillons d'urine et en ajoutant 2,0 mL d'eau dans un tube de transport d'échantillons d'urine.

K. Dépannage

1. Des valeurs de témoin positif faibles peuvent être dues à des températures incorrectes lors des différentes étapes du test ou à un temps de sélection ayant dépassé la durée recommandée lors de l'étape de sélection.
2. Des bruits de fond élevés peuvent survenir si le temps de sélection de l'étape de sélection est écourté, la sélection de température est incorrecte ou en cas de mélange insuffisant après l'ajout du réactif de sélection.
3. Si le contrôle positif, CT/contrôle négatif, GC est positif ou équivoque pour GC, ou si le contrôle positif, GC/contrôle négatif, CT est positif ou équivoque pour CT, voir *Remarques concernant la procédure, Contamination des tests* pour de plus amples renseignements.

Tigris DTS System

Les réactifs du test Aptima Combo 2 destiné à détecter la présence de CT et de GC sont énumérés ci-dessous pour le Tigris DTS System. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériel fournis

Remarque : Pour obtenir des informations sur les mentions de danger et de mise en garde qui pourraient être associées à ces réactifs, consultez la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches techniques de sécurité) à l'adresse www.hologic.com/sds.

Kit de tests Aptima Combo 2. 250 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôles) (N° de référence 301130 et 301130B)

Boîte réfrigérée Aptima Combo 2 (Boîte 1 de 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification Aptima Combo 2 <i>Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique Aptima Combo 2 <i>Transcriptase inverse et RNA polymérase déshydratées dans une solution tamponnée de HEPES contenant < 10 % de diluant.</i>	1 flacon
P	Réactif-sonde Aptima Combo 2 <i>Sondes de DNA chimioluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon
TCR-B	Réactif de capture de cible B Aptima Combo 2 <i>Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 0,61 mL

Boîte à température ambiante Aptima Combo 2 (Boîte 2 de 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	Solution de reconstitution de l'amplification Aptima Combo 2 <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 27,7 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique Aptima Combo 2 <i>Solution tamponnée de HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 11,1 mL
PR	Solution de reconstitution de sonde Aptima Combo 2 <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 35,4 mL
S	Réactif de sélection Aptima Combo 2 <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 x 108 mL

Boîte à température ambiante Aptima Combo 2 (Boîte 2 de 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
TCR	Réactif de capture de cible Aptima Combo 2 <i>Solution saline tamponnée contenant des oligomères de capture en phase solide.</i>	1 x 54 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des code-barres de lot de référence	1 fiche

Kit de témoins Aptima
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCT/NGC	Témoin positif CT/témoin négatif GC Aptima <i>Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL
PGC/NCT	Témoin positif GC/témoin négatif CT Aptima <i>Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 50 cellules de GC (250 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL

*Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Matériel requis mais vendu séparément

Remarque: Les références du matériel vendu par Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

	<u>N° de référence</u>
Tigris DTS System	105118
Kit de liquides pour tests Aptima <i>(Solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima)</i>	302382
Kit Auto Detect Aptima	301048
Kit de conservateur de liquide système Aptima	302380
Embouts, 1 000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Kit pour séries Tigris DTS System contenant	301191
Unités multi-tubes (Multi-tube Units, MTU)	104772-02
Kit de sacs pour MTU/embouts usagés	900907
Déflecteur de déchets pour MTU	900931
Couvre-déchets pour MTU	105523
Kit de transfert d'échantillons Aptima <i>à utiliser avec les échantillons dans la solution PreservCyt</i>	301154C
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon vaginal Aptima	301162

	<u>N° de référence</u>
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Eau pour le Tigris DTS System <i>consulter le Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) pour connaître les spécifications.</i>	—
Gants jetables	—
Solution étalon SysCheck	301078
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 250 tests <i>Solutions de reconstitution du réactif-sonde et du réactif d'amplification</i> CL0041 (100 bouchons) <i>Solution de reconstitution pour réactif enzymatique</i> 501616 (100 bouchons) <i>Réactif TCR et réactif de sélection</i> CL0040 (100 bouchons)	—

Matériel optionnel

	<u>N° de référence</u>
Kit de témoins Aptima	301110
Rehausseur d'eau de Javel Hologic pour le nettoyage <i>pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils</i>	302101

Procédure de test pour le Tigris DTS System

Remarque : Consulter le Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) pour de plus amples renseignements sur la procédure avec ce système.

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyer les plans de travail sur lesquels les réactifs et les échantillons seront préparés. Essuyer les plans de travail à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincer à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrir la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés à l'aide de protections de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.

B. Reconstitution des réactifs/préparation d'un nouveau kit

Remarque : La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le Tigris DTS System.

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde, combiner les flacons de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laisser leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
 - a. Faire correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifier que la solution de reconstitution et le réactif lyophilisé ont des étiquettes de couleur correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
 - b. Vérifier les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs sont associés correctement.
 - c. Ouvrir le flacon de réactif lyophilisé et insérer fermement l'extrémité du collet de reconstitution présentant une encoche dans l'ouverture du flacon (Figure 2, Étape 1).
 - d. Ouvrir la bouteille de solution de reconstitution correspondante et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - e. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérer fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 2, Étape 2).
 - f. Retourner délicatement l'assemblage flacon/bouteille. Laisser la solution s'écouler depuis la bouteille dans le flacon en verre (Figure 2, Étape 3).
 - g. Faire tourner délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Éviter de faire de la mousse dans le flacon pendant cette manipulation (Figure 2, Étape 4).
 - h. Attendre que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retourner à nouveau l'assemblage flacon/bouteille en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 2, Étape 5). Laisser tout le liquide s'écouler dans la bouteille en plastique.
 - i. Retirer le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, Étape 6).
 - j. Reboucher le flacon en plastique. Noter les initiales de l'utilisateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 2, Étape 7).
 - k. Jeter le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, Étape 8).

Avertissement: Éviter de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse nuit au fonctionnement du détecteur de niveau du Tigris DTS System.

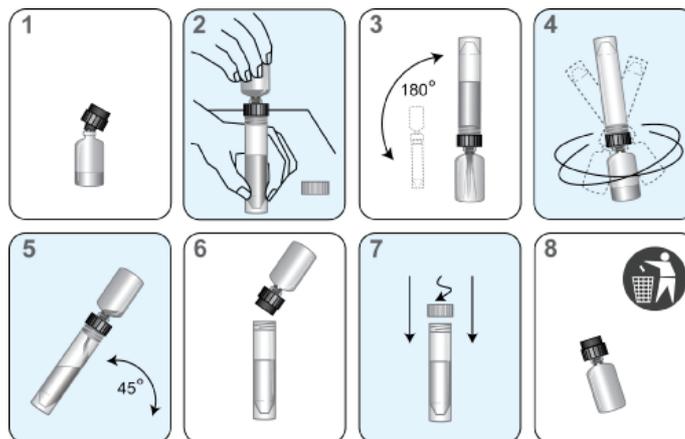


Figure 2. Procédure de reconstitution pour le Tigris DTS System ou le Panther System

2. Préparation de la solution de réactif de capture de cible (wTCR)
 - a. Associer les bouteilles de TCR et de TCR-B appropriées.
 - b. Vérifier les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs appropriés du kit correspondent.
 - c. Ouvrir le flacon de TCR et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Retirer le bouchon du flacon de TCR-B et verser la totalité du contenu dans le flacon de TCR. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
 - e. Reboucher le flacon de TCR et remuer délicatement la solution pour mélanger le contenu. Éviter de faire de la mousse pendant cette étape.
 - f. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jeter le flacon de TCR-B et son bouchon.
3. Préparation du réactif de sélection
 - a. Vérifier le numéro de lot de la bouteille de réactif pour s'assurer qu'il correspond au numéro figurant sur la fiche de code-barres du lot de référence.
 - b. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

Remarque : Bien mélanger tous les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.

- C. Préparation des réactifs préalablement reconstitués
 1. Le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde préalablement reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
 2. Si le réactif-sonde reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffer le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cette étape de chauffage, le réactif-sonde peut être utilisé même s'il reste un précipité résiduel. Mélanger le réactif-sonde par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger sur le système.
 3. Bien mélanger chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
 4. Ne pas ajouter davantage de réactif dans les flacons de réactif. Le Tigris DTS System détecte et rejette les flacons dans lesquels plus de réactif a été ajouté.

D. Manipulation des échantillons

1. Laisser les témoins ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
3. Confirmer visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
 - a. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
 - b. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon vaginal.
 - c. Volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
 - d. Absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Inspecter les tubes d'échantillon avant de les charger dans le portoir :
 - a. Si un tube de transport contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
 - b. Si le tube de transport présente un volume inférieur à celui généralement obtenu et que les instructions de collecte ont été respectées, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.
 - c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.
 - d. Si un échantillon d'urine contient un précipité, chauffer l'échantillon à 37 °C pendant 5 minutes maximum. Si le précipité ne se dissout pas, vérifier visuellement qu'il ne nuit pas à l'obtention de l'échantillon.

Remarque : Le non-respect des étapes 4a à c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.

Remarque : Il est possible de tester jusqu'à 3 aliquotes distinctes provenant de chaque tube d'échantillon. Les tentatives de pipeter plus de 3 aliquotes du tube d'échantillon peuvent entraîner des erreurs d'insuffisance de volume.

E. Préparation du système

Configurer le système et la liste de travail selon les instructions du *Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual) et de *Remarques concernant la procédure*.

Remarques concernant la procédure

A. Témoins

1. Pour travailler correctement avec le logiciel de test Aptima pour le Tigris DTS System, des témoins avant et de fin sont nécessaires. Le Contrôle positif CT/Contrôle négatif GC doit être placé dans la première position et l'avant dernière position d'une liste de travail. L'étiquette de ce témoin est rose. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + CT PCT/CONTROL – GC NGC ». Le Contrôle positif GC/Contrôle négatif CT doit être placé dans la seconde position et la dernière position d'une liste de travail. Le témoin porte une étiquette bleu-vert. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + GC PGC/CONTROL – CT NCT ».
2. Chaque tube de témoin Aptima est prévu pour un seul test. Les tentatives de pipeter plus d'une fois à partir du tube peuvent entraîner des erreurs d'insuffisance de volume.

B. Température

La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.

C. Poudre sur les gants

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

D. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour le Tigris DTS System

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et des procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon :

1. Marquer les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirer l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifier l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonner la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Insérer immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport.
4. Casser délicatement la tige de l'écouvillon sur la rainure en évitant toute projection du contenu.
5. Reboucher hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Refaire les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

Si les résultats sont positifs ou équivoques pour CT ou GC, se référer à *Interprétation du test – CQ/Résultats patients*. Pour des renseignements supplémentaires au sujet du contrôle de la contamination spécifiques au Tigris DTS System, consulter le *Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual).

Panther System

Les réactifs du test Aptima Combo 2 destiné à détecter la présence de CT et de GC sont énumérés ci-dessous pour le Panther System. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériel fournis

Remarque : *Remarque : Pour obtenir des informations sur les mentions de danger et de mise en garde qui pourraient être associées à ces réactifs, consultez la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches techniques de sécurité) à l'adresse www.hologic.com/sds.*

Kit de tests Aptima Combo 2

250 tests (2 boîtes et un kit de témoins) (N° de réf. 303094)

100 tests (2 boîtes et un kit de témoins) (N° de réf. 302923)

Boîte réfrigérée Aptima Combo 2 (Boîte 1 de 2) (à conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité Kit de 250 tests	Quantité Kit de 100 tests
A	Réactif d'amplification Aptima Combo 2 <i>Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.</i>	1 flacon	1 flacon
E	Réactif enzymatique Aptima Combo 2 <i>Transcriptase inverse et RNA polymérase déshydratées dans une solution tamponnée de HEPES contenant < 10 % de diluant.</i>	1 flacon	1 flacon
P	Réactif-sonde Aptima Combo 2 <i>Sondes de DNA chimioluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 flacon	1 flacon
TCR-B	Réactif de capture de cible B Aptima Combo 2 <i>Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 0,61 mL	1 x 0,30 mL

Boîte à température ambiante Aptima Combo 2 (Boîte 2 de 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité Kit de 250 tests	Quantité Kit de 100 tests
AR	Solution de reconstitution de l'amplification Aptima Combo 2 <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 27,7 mL	1 x 11,9 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique Aptima Combo 2 <i>Solution tamponnée de HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 11,1 mL	1 x 6,3 mL
PR	Solution de reconstitution de sonde Aptima Combo 2 <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 35,4 mL	1 x 15,2 mL
S	Réactif de sélection Aptima Combo 2 <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 x 108 mL	1 x 43,0 mL
TCR	Réactif de capture de cible Aptima Combo 2 <i>Solution saline tamponnée contenant des oligomères de capture en phase solide.</i>	1 x 54 mL	1 x 26,0 mL
	Collets de reconstitution	3	3
	Fiche des code-barres de lot de référence	1 fiche	1 fiche

Kit de témoins Aptima
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCT/NGC	Témoin positif CT/témoin négatif GC Aptima <i>Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL
PGC/NCT	Témoin positif GC/témoin négatif CT Aptima <i>Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient une concentration de rRNA estimée équivalente à 50 cellules de GC (250 fg/test*).</i>	5 x 1,7 mL

*Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Matériel requis mais vendu séparément

Remarque: Les références du matériel vendu par Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

	<u>N° de référence</u>
Panther System	303095
Kit de liquides pour tests Aptima <i>(Solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima)</i>	303014 (1 000 tests)
Kit Auto Detect Aptima	303013 (1 000 tests)
Unités multi-tubes (Multi-Tube units, MTU)	104772-02
Kit de sacs pour déchets Panther	902731
Couvre-déchets Panther	902714
Ou kit pour séries Panther <i>contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvre-déchets, des liquides pour tests et les solutions Auto Detect</i>	303096 (5 000 tests)
Embouts, 1 000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Kit de transfert d'échantillons Aptima <i>à utiliser avec les échantillons dans la solution PreservCyt</i>	301154C
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon vaginal Aptima	301162
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Gants jetables	—
Solution étalon SysCheck	301078
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 250 tests <i>Solutions de reconstitution du réactif-sonde et du réactif d'amplification</i>	—
<i>Solution de reconstitution pour réactif enzymatique</i>	<i>CL0041 (100 bouchons)</i>
<i>Réactif TCR et réactif de sélection</i>	<i>501616 (100 bouchons)</i>
	<i>CL0040 (100 bouchons)</i>
Bouchons de rechange pour les kits de 100 tests <i>Solutions de reconstitution du réactif-sonde, du réactif enzymatique et du réactif d'amplification</i>	—
<i>Réactif TCR et réactif de sélection</i>	<i>CL0041 (100 bouchons)</i>
	<i>501604 (100 bouchons)</i>

Matériel optionnel

	<u>N° de référence</u>
Kit de témoins Aptima	301110
Rehausseur d'eau de Javel Hologic pour le nettoyage <i>pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils</i>	302101

Procédure de test pour le Panther System

Remarque : Consulter le Manuel de l'utilisateur du Panther System (Panther System Operator's Manual) pour de plus amples renseignements sur la procédure du Panther System.

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyer les plans de travail sur lesquels les réactifs et les échantillons seront préparés. Essuyer les plans de travail à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincer à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrir la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés à l'aide de protections de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.

B. Reconstitution des réactifs/préparation d'un nouveau kit

Remarque : La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le Panther System.

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde, combiner les flacons de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laisser leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
 - a. Faire correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifier que la solution de reconstitution et le réactif ont des étiquettes de couleur correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
 - b. Vérifier les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs sont associés correctement.
 - c. Ouvrir le flacon de réactif lyophilisé et insérer fermement l'extrémité du collet de reconstitution présentant une encoche dans l'ouverture du flacon (Figure 3, Étape 1).
 - d. Ouvrir la bouteille de solution de reconstitution correspondante et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - e. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérer fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 3, Étape 2).
 - f. Retourner délicatement l'assemblage flacon/bouteille. Laisser la solution s'écouler depuis la bouteille dans le flacon en verre (Figure 3, Étape 3).
 - g. Faire tourner délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Éviter de faire de la mousse dans le flacon pendant cette manipulation (Figure 3, Étape 4).
 - h. Attendre que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retourner à nouveau l'assemblage flacon/bouteille en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 3, Étape 5). Laisser tout le liquide s'écouler dans la bouteille en plastique.

- i. Retirer le collet de reconstitution et le flacon de verre (Figure 3, Étape 6).
- j. Reboucher le flacon en plastique. Noter les initiales de l'utilisateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 3, Étape 7).
- k. Jeter le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 3, Étape 8).

Avvertissement: Éviter de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse nuit au fonctionnement du détecteur de niveau du Panther System.

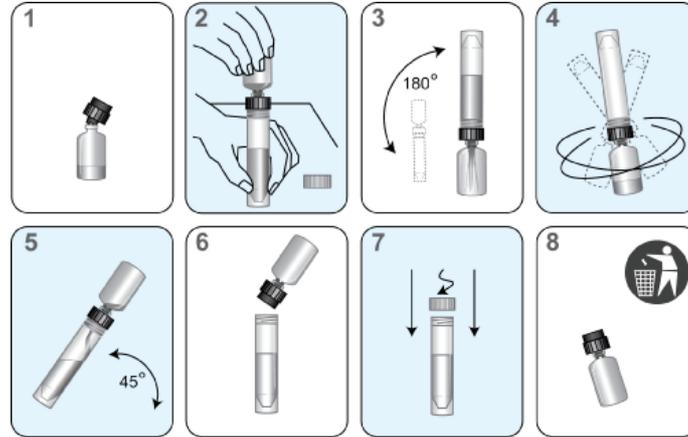


Figure 3. Procédure de reconstitution pour le Tigris DTS System ou le Panther System

2. Préparation de la solution de réactif de capture de cible (wTCR)
 - a. Associer les bouteilles de TCR et de TCR-B appropriées.
 - b. Vérifier les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs appropriés du kit correspondent.
 - c. Ouvrir le flacon de TCR et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Retirer le bouchon du flacon de TCR-B et verser la totalité du contenu dans le flacon de TCR. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
 - e. Reboucher le flacon de TCR et remuer délicatement la solution pour mélanger le contenu. Éviter de faire de la mousse pendant cette étape.
 - f. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jeter le flacon de TCR-B et son bouchon.
3. Préparation du réactif de sélection
 - a. Vérifier le numéro de lot de la bouteille de réactif pour s'assurer qu'il correspond au numéro figurant sur la fiche de code-barres du lot de référence.
 - b. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

Remarque : Bien mélanger tous les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.

C. Préparation des réactifs préalablement reconstitués

1. Le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde préalablement reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
2. Si le réactif-sonde reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffer le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cette étape de chauffage, le réactif-sonde peut être utilisé même s'il reste un précipité résiduel. Mélanger le réactif-sonde par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger sur le système.
3. Bien mélanger chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
4. Ne pas ajouter davantage de réactif dans les flacons de réactif. Le Panther System détecte et rejette les flacons dans lesquels plus de réactif a été ajouté.

D. Manipulation des échantillons

1. Laisser les témoins ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
3. Confirmer visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
 - a. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
 - b. Présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon vaginal.
 - c. Volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
 - d. Absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Inspecter les tubes d'échantillon avant de les charger dans le portoir :
 - a. Si un tube de transport contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
 - b. Si le tube de transport présente un volume inférieur à celui généralement obtenu et que les instructions de collecte ont été respectées, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.
 - c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.
 - d. Si un échantillon d'urine contient un précipité, chauffer l'échantillon à 37 °C pendant 5 minutes maximum. Si le précipité ne se dissout pas, vérifier visuellement qu'il ne nuit pas à l'obtention de l'échantillon.

Remarque : Le non-respect des étapes 4a à c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.

Remarque : Il est possible de tester jusqu'à 3 aliquotes distinctes provenant de chaque tube d'échantillon. Les tentatives de pipetage de plus de 3 aliquotes d'un tube d'échantillon peuvent entraîner des erreurs de traitement.

E. Préparation du système

1. Configurer le système selon les instructions du *Manuel de l'utilisateur du Panther System* (Panther System Operator's Manual) et les *Remarques concernant la procédure*. Veiller à ce que des portoirs à réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée soient utilisés.
2. Charger les échantillons.

Remarques concernant la procédure

A. Témoins

1. Une paire de témoins doit être utilisée pour permettre au logiciel de test Aptima pour le Panther System de fonctionner correctement. Sur le Panther System, les tubes de témoin positif CT/témoin négatif GC et de témoin positif GC/témoin négatif CT peuvent être placés à n'importe quelle position sur le portoir ou dans n'importe quelle colonne du compartiment à échantillons. Le pipetage des échantillons des patients débutera lorsqu'une des deux conditions suivantes aura été remplie :
 - a. Une paire de témoins est en cours de traitement par le système.
 - b. Des résultats valides ont été enregistrés sur le système pour les témoins.
2. Dès que le pipetage des tubes des contrôles a été réalisé et que ces derniers sont en cours de traitement pour un kit de réactifs défini, l'analyse d'échantillons du patient peut se poursuivre pendant 24 heures avec ce même kit **sauf si** :
 - a. Les résultats des contrôles sont invalides.
 - b. Le kit de réactifs du test associé est retiré du système.
 - c. La durée de stabilité du kit de réactifs associé aux témoins a été dépassée.
3. Chaque tube de témoin Aptima est prévu pour un seul test. Les tentatives de pipetage répétées (plus d'une fois) à partir d'un même tube peuvent entraîner des erreurs de traitement.

B. Température

La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.

C. Poudre sur les gants

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

D. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour le Panther System

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et des procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon :

1. Marquer les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirer l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifier l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonner la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Insérer immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport.
4. Casser délicatement la tige de l'écouvillon sur la rainure en évitant toute projection du contenu.
5. Reboucher hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Refaire les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

Si les résultats sont positifs ou équivoques pour CT ou GC, voir *Interprétation du test – CQ/Résultats patients*. Pour des renseignements supplémentaires au sujet du contrôle de la contamination spécifiques au Panther System, communiquer avec le Service technique de Hologic.

Interprétation du test – CQ/Résultats patients

A. Interprétation des tests

Les résultats des tests sont automatiquement interprétés par le logiciel de test Aptima au moyen du protocole Aptima Combo 2, et présentés sous forme de résultats de test CT et GC individuels. Un résultat de test peut être négatif, équivoque, positif ou invalide comme le déterminent le type de cinétique et le nombre total de RLU dans l'étape de détection (voir ci-dessous). Un résultat de test peut être invalide si l'un des paramètres se situe en dehors des seuils normalement prévus. Si les premiers résultats de test sont équivoques ou invalides, le test doit être refait.

Type cinétique	Total de RLU (x1000) pour obtenir le résultat de CT		
	Négatif	Équivoque	Positif
CT uniquement	1 à < 25	25 à < 100	100 à < 4500
CT et GC	1 à < 85	85 à < 250	250 à < 4500
CT indéterminé	1 à < 85	85 à < 4500	S.O.

Type cinétique	Total de RLU (x1000) pour obtenir le résultat de GC		
	Négatif	Équivoque	Positif
GC uniquement	1 à < 60	60 à < 150	150 à < 4500
GC et CT	1 à < 85	85 à < 250	250 à < 4500
GC indéterminé	1 à < 85	85 à < 4500	S.O.

B. Résultats du contrôle de qualité et acceptabilité

Le contrôle positif CT/contrôle négatif GC et le contrôle positif GC/contrôle négatif CT font office de contrôles pour les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test. Selon les recommandations ou les exigences en vigueur dans votre pays ou auprès des organismes d'accréditation, des témoins supplémentaires pour la lyse cellulaire et la stabilisation du RNA peuvent être requis. Le contrôle positif CT / contrôle négatif GC sert de contrôle négatif pour tous les résultats de test GC. Le contrôle positif GC/contrôle négatif CT sert de contrôle négatif pour tous les résultats de test CT. Si on le souhaite, un double contrôle négatif fourni par l'utilisateur peut être ajouté pour surveiller le bruit de fond du test. La bonne préparation des échantillons se confirme visuellement par la présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon, ou par un volume final d'urine situé entre les lignes indicatrices noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine, ou encore par l'absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.

Les témoins positifs doivent produire les résultats de test suivants :

Témoin	Total de RLU (x1000)	Résultat de CT	Résultat de GC
Contrôle positif CT/ contrôle négatif GC	≥ 100 et < 3000	Positif	Négatif
Contrôle positif GC/ contrôle négatif CT	≥ 150 et < 3000	Négatif	Positif

1. Le logiciel de test Aptima évalue automatiquement les témoins selon les critères ci-dessus et indique que la série a Réussi (PASS) si les critères de témoin de la série sont satisfaits ou a Échoué (FAIL) si les critères de témoin de la série ne sont pas satisfaits.
2. Si le Run Status (État de la série) indique Échec (FAIL), tous les résultats des tests d'une même série sont invalides et ne doivent pas être pris en compte.
3. Chaque laboratoire devra mettre en place des procédures de contrôle appropriées pour répondre aux exigences des règlements CLIA (paragraphe 493.1256).

Remarque : Voir *Dépannage* ou appeler le Service technique de Hologic pour toute assistance avec des contrôles hors normes sur les DTS Systems.

4. L'un des paramètres du Tigris DTS System permet à chaque site de préciser une fréquence de « série encadrée de témoins » où des jeux de témoins supplémentaires peuvent être placés à des intervalles définis dans la liste de travail. Si ce paramètre est précisé, le Tigris DTS System exigera de placer un jeu de témoins après le nombre défini d'échantillons de la série encadrée de témoins. Le Tigris DTS System évalue automatiquement chacun des témoins de la liste de travail en fonction des critères ci-dessus et invalide tous les échantillons dans la ou les séries encadrées de témoins concernées si les critères de témoin ne sont pas satisfaits. Consulter le *Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System* (Tigris DTS System Operator's Manual) pour de plus amples renseignements.
5. Les témoins négatifs peuvent se révéler inefficaces pour surveiller la contamination aléatoire de transfert. Voir *Rendement analytique du Tigris DTS System* pour consulter les résultats d'une étude analytique sur la contamination de transfert avec une valeur cible élevée qui a été effectuée pour démontrer le contrôle de la contamination de transfert sur le Tigris DTS System. Voir *Rendement analytique du Panther System* pour consulter les résultats d'une étude analytique sur la contamination de transfert avec une valeur cible élevée qui a été effectuée pour démontrer le contrôle de la contamination de transfert sur le Panther System.

C. Contrôle de la préparation des échantillons (facultative)

Le contrôle positif CT/contrôle négatif GC et le contrôle positif GC/contrôle négatif CT fournis dans le kit servent de contrôles aux étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test et doivent être inclus dans chaque série de test. Si on le souhaite, des contrôles de la lyse cellulaire et de la stabilisation du RNA dans un milieu de transport adéquat (solution PreservCyt, STM) peuvent être testés conformément aux recommandations ou aux exigences des organismes d'accréditation concernés ou encore selon les procédures particulières du laboratoire. Les échantillons positifs connus peuvent servir de témoins s'ils sont préparés et testés avec des échantillons inconnus. Les échantillons utilisés comme témoins de la préparation doivent être conservés, manipulés et testés conformément à la notice de test. Les témoins de la préparation des échantillons doivent être interprétés de la même manière que celle recommandée pour les échantillons de patients. Voir *Interprétation du test – CQ/Résultats patients, Résultats des tests de patients*.

D. Résultats des tests de patients

1. Si les témoins utilisés lors d'une série ne donnent pas les résultats attendus, les résultats des tests des échantillons des patients faisant partie de la même série ne doivent pas être validés.
2. Résultats des échantillons sur écouvillon, des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt et d'urine (voir les remarques ci-dessous).

a. Résultats initiaux

CT Pos.	Positif pour le rRNA de CT.
CT Nég.	Présumé négatif pour le rRNA de CT.
CT Équiv.	L'échantillon devra être testé à nouveau.
GC Pos.	Positif pour le rRNA de GC.
GC Nég.	Présumé négatif pour le rRNA de GC.
GC Équiv.	L'échantillon devra être testé à nouveau.
Invalide	L'échantillon devra être testé à nouveau.

b. Tester à nouveau les résultats

CT Pos.	Positif pour le rRNA de CT.
CT Nég.	Présumé négatif pour le rRNA de CT.
CT Équiv.	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.
GC Pos.	Positif pour le rRNA de GC.
GC Nég.	Présumé négatif pour le rRNA de GC.
GC Équiv.	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.
Invalide	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.

Remarques :

- Il est conseillé d'examiner attentivement les données de performance pour interpréter les résultats du Test Aptima Combo 2 pour les individus asymptomatiques ou tout individu venant d'une population à faible prévalence d'infection.
- Le premier résultat valide pour chaque analyte est celui qui doit être validé.
- Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'une infection à CT ou à GC étant donné que les résultats peuvent être affectés par la qualité de la collecte des échantillons, l'absence d'inhibiteurs, et une quantité de rRNA insuffisante pour être détectée. Les résultats des tests peuvent être affectés par une mauvaise collecte des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique ou une confusion entre échantillons.
- Comme c'est le cas avec toutes les méthodes sans culture, un échantillon négatif obtenu sur un patient après un traitement thérapeutique ne peut pas être interprété comme indiquant la présence de CT ou de GC viables.
- Comme c'est le cas avec toutes les méthodes de test urinaire, un test d'urine négatif chez une patiente cliniquement soupçonnée d'infection à Chlamydia ou gonococcique n'exclut pas la présence de CT ou de GC dans l'appareil génito-urinaire. Dans ces situations, il est recommandé de tester un échantillon endocervical. De la même façon, un test d'urine négatif pour GC chez un sujet féminin a une valeur prédictive négative inférieure à celle du résultat d'un écouvillon endocervical.
- Le test d'un échantillon endocervical est recommandé pour les patientes chez qui l'examen clinique indique une infection à Chlamydia ou gonococcique. Si un échantillon

pour frottis cervical et un échantillon endocervical sur écouvillon sont collectés, l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt doit être collecté avant l'échantillon endocervical sur écouvillon.

Limites

- A. L'utilisation de ce test est réservée au personnel ayant été formé à la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. Les échantillons sur écouvillon ont été évalués avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems pour toute interférence avec du sang, des lubrifiants intimes et des spermicides. Les échantillons d'urine ont été évalués pour la recherche d'éventuelles interférences avec le sang, des vitamines couramment utilisées, des minéraux et des analgésiques en vente libre. L'interférence avec le sang a été aussi évaluée sur le Tigris DTS System. Les données n'ont souligné aucune interférence de ces substances sur le test.
- C. Les effets de l'utilisation de tampons hygiéniques ou de toilettes vaginales et des variables de la collecte des échantillons n'ont pas été évalués pour la détection de CT ou de GC.
- D. La présence de mucus dans les échantillons endocervicaux n'interfère pas avec la détection de CT ou GC par le test Aptima Combo 2. Toutefois, afin d'assurer la collecte des cellules infectées par CT, les cellules épithéliales cylindriques tapissant la région endocervicale doivent être échantillonnées. Si l'excès de mucus n'est pas retiré, l'échantillonnage de ces cellules n'est pas assuré.
- E. Cette méthode a été testée en utilisant uniquement les échantillons suivants :
- Échantillons endocervicaux, vaginaux, et urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon
 - Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt collectés par un clinicien
 - Échantillons vaginaux collectés par les patientes à l'aide d'un écouvillon
 - Échantillons d'urine féminins et masculins collectés par les patients
- Le rendement du test sur des échantillons autres que ceux collectés à l'aide des kits de collecte d'échantillons suivants n'a pas été évalué :
- Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon
 - Kit de collecte d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins
 - Kit de collecte d'échantillons – écouvillon vaginal Aptima
 - Le kit de transfert d'échantillons Aptima (pour les échantillons gynécologiques collectés dans la solution PreservCyt)
- F. L'échantillonnage des échantillons d'urine, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt n'est pas destiné à remplacer les examens cervicaux et les échantillons endocervicaux dans le diagnostic des infections urogénitales chez la femme. Les patientes peuvent souffrir d'une cervicite, d'une urétrite, d'une infection urinaire ou d'une infection vaginale dues à d'autres causes ou à des infections parallèles par d'autres agents.
- G. Le Test Aptima Combo 2 n'est pas prévu pour l'évaluation d'abus sexuels présumés ou à d'autres fins médico-légales. Pour les patients chez qui des résultats faussement positifs peuvent avoir un impact psychosocial défavorable, le CDC recommande d'effectuer un nouveau test (4).

- H. La fiabilité des résultats dépend de la qualité de la collecte des échantillons. Étant donné que le système de transport utilisé pour ce test ne permet pas l'évaluation microscopique de la qualité des échantillons, il est nécessaire que les cliniciens soient formés aux techniques de collecte d'échantillons appropriées. Consulter la notice du kit de collecte d'échantillons Hologic correspondante.
- I. L'échec ou la réussite d'une thérapie ne peut être déterminé par le Test Aptima_Combo 2 étant donné que les acides nucléiques peuvent persister après une thérapie antimicrobienne appropriée.
- J. Les résultats du Test Aptima Combo 2 doivent être interprétés en conjonction avec les autres données de laboratoire et cliniques dont dispose le clinicien.
- K. Un résultat négatif n'exclut pas une éventuelle infection étant donné que les résultats dépendent de la qualité de la collecte de l'échantillon. Les résultats des tests peuvent être influencés par une collecte inadéquate des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique, une confusion entre échantillons ou un taux de cible inférieur au seuil de détection du test.
- L. Le Test Aptima Combo 2 fournit des résultats qualitatifs. Il n'est donc pas possible d'établir une corrélation entre l'intensité d'un signal de test positif et le nombre d'organismes dans un échantillon.
- M. Concernant les études cliniques des échantillons vaginaux, endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine, les caractéristiques de performance de la détection de CT et de GC proviennent de populations à prévalence d'infections élevée. Des résultats positifs dans des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant qu'il est plus probable d'obtenir un résultat faussement positif que vraiment positif.
- N. Concernant les études cliniques des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, la performance du Test Aptima Combo 2 dans la détection de CT et de GC provient essentiellement de populations à faible prévalence d'infections. Néanmoins, des résultats positifs dans des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant qu'il est plus probable d'obtenir un résultat faussement positif que vraiment positif.
- O. Le rendement du kit de transfert d'échantillons Aptima n'a pas été évalué pour tester le même échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt avant et après le traitement du frottis avec le système ThinPrep.
- P. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt traités avec des instruments, autre que le processeur ThinPrep 2000, n'ont pas été évalués pour être utilisés avec les tests Aptima.
- Q. Les échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal offrent une option de dépistage chez les femmes lorsqu'un examen pelvien n'est pas autrement indiqué.
- R. L'utilisation d'échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal est limitée aux centres de soins de santé où des conseils ou du soutien sont offerts pour expliquer les procédures et les précautions d'emploi.
- S. Le Test Aptima Combo 2 n'a pas été validé pour être utilisé avec des échantillons vaginaux sur écouvillon collectés par des patientes à domicile.
- T. La performance des échantillons vaginaux sur écouvillon n'a pas été évaluée chez les femmes enceintes.

- U. Le rendement des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt n'a pas été évalué chez les adolescents de moins de 16 ans.
- V. Le rendement du Tigris DTS System n'a pas été déterminé à une altitude supérieure à 2 240 mètres. Des vérifications volumétriques ainsi que des études spécifiques au test supplémentaires seront effectuées avant le processus d'installation et d'acceptation ou dans le cadre de ce processus, pour les laboratoires situés à une altitude supérieure à 2 240 mètres.
- W. Le rendement du Panther System n'a pas été déterminé à une altitude supérieure à 2 000 mètres.
- X. Il ne semble pas y avoir de dégradation des acides nucléiques dans la solution PreservCyt. Si un échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt présente une faible quantité de matériel cellulaire de CT et de GC, il peut se produire une distribution irrégulière de ce matériel cellulaire. De même, lorsqu'on le compare à l'échantillonnage direct avec le milieu de transport d'échantillons Aptima, le volume additionnel de la solution PreservCyt donne une dilution plus importante du matériel échantillonné. Ces facteurs peuvent influencer la capacité à détecter une petite quantité d'organismes dans le matériel collecté. Si les résultats négatifs de l'échantillon ne correspondent pas à l'impression clinique, il pourrait être nécessaire d'utiliser un nouvel échantillon.
- Y. Les clients doivent valider indépendamment un processus de transfert LIS.

Valeurs attendues pour les DTS Systems**Prévalence**

La prévalence d'infections à CT et/ou à GC dans les populations de patients dépend des facteurs de risque tels que l'âge, le sexe, la présence de symptômes, le type de clinique et la méthode de test. Un résumé de la prévalence de trois résultats d'infections à CT et à GC tels que déterminés par le Test Aptima Combo 2 est indiquée dans les Tableaux 1a, 1b, et 1c pour trois études cliniques multicentriques par site clinique et de manière globale.

Prévalence des infections à *C. trachomatis* et/ou *N. gonorrhoeae* telle que déterminée par les résultats du test Aptima Combo 2 par site clinique*Tableau 1a : Échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, et échantillons d'urine*

Site	Échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon						Urine					
	% prévalence (Nbre de positifs/Nbre testés)						% Prévalence (Nbre de positifs/Nbre testés)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	10,0	(39/392)	12,8	(50/392)	14,5	(57/392)	8,4	(33/395)	12,9	(51/395)	13,9	(55/395)
2	7,0	(13/186)	12,9	(24/186)	6,5	(12/186)	5,3	(13/245)	13,9	(34/245)	8,6	(21/245)
3	10,4	(48/462)	22,9	(106/462)	14,3	(66/462)	10,3	(48/465)	20,9	(97/465)	12,7	(59/465)
4	3,3	(9/270)	12,2	(33/270)	7,0	(19/270)	3,3	(9/270)	11,5	(31/270)	6,7	(18/270)
5	1,9	(10/533)	8,4	(45/533)	2,3	(12/533)	2,1	(12/567)	9,4	(53/567)	1,8	(10/567)
6	6,3	(43/678)	12,8	(87/678)	16,2	(110/678)	5,9	(40/681)	10,9	(74/681)	13,5	(92/681)
7	4,4	(11/252)	8,7	(22/252)	21,8	(55/252)	4,1	(12/295)	9,2	(27/295)	18,0	(53/295)
Tous	6,2	(173/2773)	13,2	(367/2773)	11,9	(331/2773)	5,7	(167/2918)	12,6	(367/2918)	10,6	(308/2918)

Tableau 1b : Échantillons vaginaux collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon et échantillons vaginaux collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon

Site	Échantillons vaginaux collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon						Échantillons vaginaux collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon					
	% prévalence (Nbre de positifs/Nbre testés)						% prévalence (Nbre de positifs/Nbre testés)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	1,8	(4/220)	16,4	(36/220)	4,1	(9/220)	3	(7/230)	15,7	(36/230)	3,5	(8/230)
2	9,6	(19/198)	18,7	(37/198)	6,6	(13/198)	9,5	(19/199)	18,1	(36/199)	7	(14/199)
3	0,9	(1/111)	9	(10/111)	2,7	(3/111)	0,9	(1/113)	9,7	(11/113)	1,8	(2/113)
4	0,4	(1/266)	9	(24/266)	1,9	(5/266)	0,4	(1/267)	11,2	(30/267)	2,2	(6/267)
5	0,5	(1/199)	7,5	(15/199)	0,5	(1/199)	0,5	(1/199)	7	(14/199)	0,5	(1/199)
6	2,8	(8/290)	10	(29/290)	5,5	(16/290)	2	(6/296)	12,2	(36/296)	5,4	(16/296)
7	0	(0/102)	11,8	(12/102)	0	(0/102)	0	(0/102)	9,8	(10/102)	0	(0/102)
8	0	(0/48)	8,3	(4/48)	2,1	(1/48)	0	(0/51)	7,8	(4/51)	2	(1/51)
Tous	2,4	(34/1434)	11,6	(167/1434)	3,3	(48/1434)	2,4	(35/1457)	12,1	(177/1457)	3,3	(48/1457)

Tableau 1c : Échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt

Site	Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt % prévalence (nbre positifs/nbre)		
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+
1	3,0 (3/100)	13,0 (13/100)	2,0 (2/100)
2	0 (0/124)	3,2 (4/124)	0,8 (1/124)
3	0,4 (2/475)	6,1 (29/475)	0,4 (2/475)
4	0,4 (1/287)	4,2 (12/287)	0 (0/287)
5	0 (0/297)	5,1 (15/297)	1,0 (3/297)
6	0 (0/364)	5,5 (20/364)	0,6 (2/364)
TOUS	0,4 (6/1647)	5,6 (93/1647)	0,6 (10/1647)

Les prévalences de CT et de GC ont été calculées en utilisant les résultats du test Aptima Combo 2 de l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt.

Valeurs prédictives positives et négatives des taux de prévalence hypothétiques en Amérique du Nord

Les valeurs prédictives positives et négatives (PPV et NPV) estimées pour différents taux de prévalence en utilisant le Test Aptima Combo 2 sont indiquées dans les Tableaux 2 et 3 ci-dessous pour CT et GC respectivement. Ces calculs sont basés sur la prévalence hypothétique d'une sensibilité et d'une spécificité générales calculées d'après l'état d'infection des patients dans deux études cliniques multicentriques. La sensibilité et la spécificité générales à CT étaient respectivement de 96,1 % et 98,0 % (Tableau 2). La sensibilité et la spécificité générales à GC étaient respectivement de 97,8 % et 99,2 % (Tableau 3). Les PPV et NPV réelles calculées en utilisant les données des tests cliniques sont indiqués dans les Tableaux 6a et 10a (échantillons sur écouvillon et d'urine), Tableaux 6b et 10b (échantillons vaginaux sur écouvillon), et Tableaux 6c et 10c (échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt).

Tableau 2 : PPV et NPV hypothétiques pour CT

Taux de prévalence (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Valeur prédictive positive (%)	Valeur prédictive négative (%)
1	96,1	98,0	33,1	100,0
2	96,1	98,0	50,0	99,9
5	96,1	98,0	72,0	99,8
10	96,1	98,0	84,5	99,6
15	96,1	98,0	89,6	99,3
20	96,1	98,0	92,4	99,0
25	96,1	98,0	94,2	98,7
30	96,1	98,0	95,4	98,3

Tableau 3 : PPV et NPV hypothétiques pour GC

Taux de prévalence (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Valeur prédictive positive (%)	Valeur prédictive négative (%)
1	97,8	99,2	55,3	100,0
2	97,8	99,2	71,4	100,0
5	97,8	99,2	86,6	99,9
10	97,8	99,2	93,2	99,7
15	97,8	99,2	95,6	99,6
20	97,8	99,2	96,8	99,4
25	97,8	99,2	97,6	99,2
30	97,8	99,2	98,1	99,0

DTS Systems performance clinique

Consulter *Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System* après le chapitre *Rendement analytique des DTS Systems* pour connaître le rendement clinique spécifique au Tigris DTS System.

Résultats des études cliniques

Le rendement du test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems a été établi dans trois études cliniques multicentriques effectuées en Amérique du Nord. La première étude clinique multicentrique a évalué des échantillons endocervicaux et urétraux masculins collectés par des cliniciens à l'aide d'un écouvillon et des échantillons d'urine masculins et féminins provenant de 1 363 sujets masculins et 1 569 sujets féminins inscrits dans sept sites cliniques géographiquement répartis. La seconde étude clinique multicentrique a évalué des échantillons vaginaux collectés par la patiente et par un clinicien à l'aide d'un écouvillon chez 1 464 sujets féminins inscrits dans huit sites cliniques géographiquement répartis. La troisième étude clinique multicentrique a évalué les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt provenant de 1 647 sujets inscrits dans six sites cliniques. Lors des calculs de performance basés sur l'état des symptômes, les sujets ont été classés comme symptomatiques s'ils ont fait état d'écoulements, de dysuries, de douleurs pelviennes et d'autres symptômes de cet ordre. Les sujets ont été classés asymptomatiques s'ils n'ont fait état d'aucun symptôme.

Étude clinique des échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon et d'urine

Dans l'étude clinique multicentrique des échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux sur écouvillon et d'urine, 2 932 sujets masculins et féminins symptomatiques et asymptomatiques ayant consulté dans des cliniques pour ITS, des gynécologues/obstétriciens et des centres de planification familiale ont été inscrits dans l'étude. Jusqu'à trois écouvillons urétraux et un échantillon d'urine ont été collectés chez les sujets masculins et quatre écouvillons endocervicaux et un échantillon d'urine chez les sujets féminins. Pour les sujets masculins fournissant un écouvillon urétral, le test comprenait uniquement la culture de GC. Pour les sujets masculins fournissant trois écouvillons, les tests comprenaient la culture de GC, le test Aptima Combo 2 et des TAAN offerts sur le marché pour CT et GC. Les tests des écouvillons endocervicaux comprenaient le test Aptima Combo 2, deux TAAN offerts sur le marché pour CT, un TAAN offert sur le marché pour GC, et la culture de GC. L'écouvillon de culture de GC a été collecté en premier et l'ordre de collecte des écouvillons restants a été alterné pour minimiser les biais de prélèvement. L'urine a été testée avec le test Aptima Combo 2, deux TAAN offerts sur le marché pour CT, et un test amplifié pour GC offert sur le marché. Les tests d'amplification offerts sur le marché ont été utilisés comme tests de référence dans l'étude clinique du test Aptima Combo 2.

Tous les calculs de performance étaient basés sur le nombre total d'échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon et d'échantillons d'urine masculins et féminins du test Aptima Combo 2 comparés à un algorithme de l'état d'infection des patients pour chacun des deux sexes. Dans chaque algorithme spécifique au sexe, la désignation d'un sujet comme étant infecté, non infecté, ou avec résultats non concluants se basait sur les résultats combinés des écouvillons endocervicaux et urétraux masculins du TAAN de référence et des échantillons d'urine. Concernant l'état d'infection à CT, deux résultats positifs avec un TAAN de référence de toute forme de combinaison d'écouvillon et d'échantillon d'urine désignaient le sujet comme étant infecté. Si tous les résultats du test de référence étaient négatifs, le sujet était désigné comme non infecté. Si un seul résultat était positif, le sujet était désigné comme non concluant. Concernant l'état d'infection à GC, une

culture positive, ou des résultats d'écouvillon ou d'urine positifs avec le test amplifié de référence, désignait le sujet comme étant infecté. Une culture négative accompagnée d'un seul résultat positif avec le test amplifié de référence donnait lieu à un état non concluant. Si tous les résultats du test de référence étaient négatifs, le sujet était désigné comme non infecté. Les Tableaux 7a, 7b, 7c, 8, 11a, 11b, 11c, et 12 résument la fréquence des résultats du test pour les deux TAAN de référence et le test Aptima Combo 2 chez les sujets de l'étude clinique.

Les résultats du test Aptima Combo 2 pour les échantillons endocervicaux et urétraux masculins collectés par des cliniciens à l'aide d'un écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine masculins et féminins, ont été comparés à l'algorithme de l'état d'infection des patients pour déterminer la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives. Au total, 15 661 résultats de test CT et 14 144 de test GC ont été utilisés dans l'analyse de données. La sensibilité et la spécificité à CT par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées dans le Tableau 5a. Le Tableau 6a indique la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test Aptima Combo 2 selon l'état d'infection des patients pour chaque site clinique et dans l'ensemble. La sensibilité et la spécificité de détection de GC par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées dans le Tableau 9a. Le Tableau 10a indique la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives pour GC du test Aptima Combo 2 selon l'état d'infection des patients pour chaque site clinique et dans l'ensemble. Les échantillons positifs avec le test Aptima Combo 2 et avec un état d'infection des patients négatif (c.-à-d. faussement positifs en apparence) ont été testés avec d'autres tests d'amplification Hologic pour CT et GC. Ces tests amplifient des séquences de CT et de GC qui sont différentes de celles amplifiées avec le test Aptima Combo 2. Les tests ont été effectués sur un échantillon à la fois (c.-à-d. pas nécessairement sur des échantillons sur écouvillon et d'urine associés) et les résultats des tests d'amplification de remplacement n'ont pas été utilisés pour changer les catégories initiales des patients (Tableaux 5a et 9a).

L'effet du sang a été évalué dans les échantillons endocervicaux sur écouvillon pour établir la performance des tests CT et GC. Sur les 2 454 échantillons dont la performance CT a été évaluée, 234 (9,5 %) étaient teintés de sang. Sur les 2 829 échantillons dont la performance GC a été évaluée, 247 (8,7 %) étaient teintés de sang. La performance du test aussi bien pour CT que pour GC n'a pas été statistiquement différente pour les échantillons teintés de sang que pour ceux qui ne l'étaient pas. On trouvera des renseignements supplémentaires sur les tests de détection du sang dans la section *Substances interférentes*.

La performance du test avec des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine chez les femmes enceintes a été évaluée lors de l'étude clinique. Pour CT, la sensibilité des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine a été respectivement de 100 % (8/8) et de 100 % (8/8). La spécificité des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine a été respectivement de 95,8 % (23/24) et de 100 % (24/24). Pour GC, la sensibilité des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine a été respectivement de 100 % (8/8) et de 100 % (8/8). La spécificité des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine a été respectivement de 100 % (26/26) et de 100 % (26/26).

Sur les 11 406 résultats des tests Aptima Combo 2 de cette étude clinique multicentrique, trois résultats pour CT et neuf pour GC étaient équivoques sur les tests successifs et ont été exclus de l'analyse. Un échantillon était invalide pour les résultats CT et GC et a été exclu de l'étude.

Étude clinique des échantillons vaginaux sur écouvillon

Dans l'étude clinique multicentrique des écouvillons vaginaux, 1 464 sujets féminins symptomatiques et asymptomatiques se rendant dans des centres pour ITS, chez des

gynécologues/obstétriciens, dans des cliniques pour adolescents et des centres de planification familiale, ont été évalués lors de l'étude clinique. Sur les 646 sujets asymptomatiques participant à l'étude, deux avaient moins de 16 ans, 158 avaient entre 16 et 20 ans, 231 avaient entre 21 et 25 ans et 255 avaient plus de 25 ans. Sur les 818 sujets symptomatiques participant à l'étude, 160 avaient entre 16 et 20 ans, 324 avaient entre 21 et 25 ans et 334 avaient plus de 25 ans. Cinq échantillons ont été collectés chez chaque sujet admissible : un échantillon d'urine, un échantillon vaginal collecté par la patiente à l'aide d'un écouvillon, un échantillon vaginal sur écouvillon collecté par un clinicien à l'aide d'un écouvillon et deux échantillons endocervicaux aléatoires sur écouvillon. Les résultats du test Aptima Combo 2 ont été obtenus à partir des deux échantillons vaginaux sur écouvillon, d'un des échantillons endocervicaux sur écouvillon, et d'une aliquote de l'échantillon d'urine. Le deuxième échantillon endocervical sur écouvillon et la deuxième aliquote de l'échantillon d'urine ont été testés en utilisant un autre TAAN pour CT offert sur le marché ainsi qu'un autre TAAN pour GC offert sur le marché. Les échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine testés avec le test Aptima Combo 2 ainsi que les autres TAAN offerts sur le marché ont été utilisés comme TAAN de référence pour déterminer l'état d'infection de chaque sujet de l'étude clinique des échantillons vaginaux sur écouvillon. L'analyse des échantillons a été effectuée soit sur le site d'inscription des sujets, soit dans un site d'analyse externe.

Tous les calculs de performance étaient basés sur le nombre total des résultats du test Aptima Combo 2 pour les échantillons vaginaux collectés par des patientes et par des cliniciens à l'aide d'un écouvillon comparés à l'algorithme de l'état d'infection d'un patient. Au total, 2 073 résultats de test CT et 2 073 de test GC ont été utilisés dans l'analyse de données. Dans l'algorithme, la désignation d'un sujet comme étant infecté ou non infecté par CT ou GC était basée sur les résultats des échantillons endocervicaux sur écouvillon ou d'urine du test Aptima Combo 2 offert sur le marché ainsi que de l'autre TAAN offert sur le marché. Les sujets étaient considérés infectés par CT or GC si deux des quatre échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine étaient positifs avec le test Aptima Combo 2 et l'autre TAAN de référence (un échantillon testant positif dans chaque TAAN). Les sujets étaient considérés non infectés si moins de deux résultats de TAAN de référence étaient positifs. Les Tableaux 7b et 11b résumant le nombre des résultats de sujets symptomatiques et asymptomatiques désignés comme infectés ou non infectés respectivement par CT ou GC, selon l'algorithme de l'état d'infection des patients. Pour cette étude clinique, deux TAAN offerts sur le marché ont été utilisés afin de déterminer l'état d'infection à GC. La culture n'a pas été utilisée comme test de référence du fait que le test Aptima Combo 2 a déjà été évalué par rapport à cette culture avec d'autres types d'échantillons (consulter *Étude clinique des échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon et d'urine* pour de plus amples détails).

La sensibilité et la spécificité à CT par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées au Tableau 5b. Le Tableau 6b indique la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test Aptima Combo 2 pour CT selon l'état d'infection des patients pour chaque site clinique et dans l'ensemble. La sensibilité et la spécificité de détection de GC par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées dans le Tableau 9b. Le Tableau 9b indique la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives pour GC du test Aptima Combo 2 selon l'état d'infection des patients pour chaque site clinique et dans l'ensemble. Les échantillons pour lesquels le test Aptima Combo 2 était positif alors que l'état d'infection du patient était négatif (c.-à-d. a priori des faux-positifs) ont été analysés par des tests TMA de remplacement pour CT et GC; les séquences cibles de ces tests TMA de remplacement étaient distinctes de celles ciblées par le test Aptima Combo 2. Les résultats des tests TMA de remplacement n'ont pas été utilisés pour changer les catégories initiales des patients (Tableaux 5b et 9b).

Sur les 1 464 sujets inscrits, 13 sujets avaient un état d'infection à CT inconnu et 14 sujets un état d'infection à GC inconnu. Les sujets ont été désignés comme ayant un état d'infection inconnu si des résultats incomplets empêchaient de déterminer de manière concluante leur état d'infection. Les résultats obtenus auprès de ces sujets n'ont été inclus dans aucun des calculs de performance. Sur les 5 782 résultats d'écouvillons vaginaux du test Aptima Combo 2 de l'étude clinique multicentrique, seul un faible pourcentage (28, 0,5 %) d'échantillons vaginaux sur écouvillon a initialement donné des résultats de test invalides ou équivoques pour CT ou GC. Lors des tests de répétition, seulement trois résultats CT et deux résultats GC étaient équivoques et ont été exclus de l'analyse. Aucun échantillon n'a donné un résultat invalide lors des tests de répétition.

Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Une étude clinique prospective multicentrique a été effectuée pour évaluer l'utilisation de la solution PreservCyt (un composant du système ThinPrep 2000) comme milieu de remplacement pour les échantillons gynécologiques dans la détection de CT et GC. Mille six-cent quarante-sept (1 647) sujet féminins symptomatiques et asymptomatiques se rendant chez des gynécologues/obstétriciens, des centres de planification familiale, des dispensaires, et des cliniques pour femmes et pour ITS, ont été évaluées lors de l'étude clinique. Sur les 1 647 sujets évaluables, 1 288 étaient des sujets asymptomatiques et 359 des sujets symptomatiques. Les sujets ont été inscrits dans des sites où la prévalence de CT s'échelonnait de 3,2 % à 14,0 %, et de 0,0 % à 5,0 % pour GC. Deux échantillons ont été collectés chez chaque sujet admissible : un frottis en milieu liquide PreservCyt et un échantillon endocervical sur écouvillon. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été traités conformément au *Manuel de l'utilisateur du processeur ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* et à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima. Après traitement de l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt avec le processeur ThinPrep 2000, l'échantillon a été transféré dans le kit de transfert d'échantillons Aptima pour être testé à l'aide du test Aptima Combo 2. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt et les échantillons endocervicaux sur écouvillon ont été testés à l'aide du test Aptima Combo 2.

La sensibilité et la spécificité des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été calculées en comparant les résultats à un algorithme de l'état d'infection des patients. Dans l'algorithme, la désignation d'un sujet comme étant infecté ou non infecté par CT ou GC était basée sur les résultats des échantillons endocervicaux sur écouvillon ou d'urine de deux TAAN offerts sur le marché (Tableaux 7c et 11c). Concernant CT, les TAAN de référence comprenaient le test Aptima Combo 2 et le test Aptima CT. Concernant GC, les TAAN de référence comprenaient le test Aptima Combo 2 et le test Aptima GC. Des résultats positifs aux deux TAAN de référence étaient nécessaires pour établir l'*infection* du patient. Le patient était jugé *non infecté* en cas de discordance ou de résultats négatifs avec les deux TAAN de référence.

La sensibilité et la spécificité de détection de CT des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt testés avec le test Aptima Combo 2 sont présentées par état des symptômes et pour l'ensemble au Tableau 5c. Concernant CT, la sensibilité a été de 96,7 % (87/90) sur l'ensemble. Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, la sensibilité était respectivement de 96,7 % (29/30) et 96,7 % (58/60). La spécificité pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt était de 99,2 % (1 545/1 557) sur l'ensemble. Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, les spécificités étaient respectivement de 98,5 % (324/329) et 99,4 % (1 221/1 228). Le Tableau 6c donne les valeurs de spécificité et de sensibilité du test Aptima Combo 2 pour CT dans les échantillons de frottis en milieu

liquide PreservCyt par site clinique et sur l'ensemble. Concernant CT, la sensibilité s'échelonnait de 92,9 % à 100 %. La spécificité s'échelonnait de 97,7 % à 100 %.

La sensibilité et la spécificité de détection de CT des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt testés avec le test Aptima Combo 2 sont présentées par état des symptômes et pour l'ensemble dans le Tableau 9c. Pour GC, la sensibilité globale était de 92,3 % (12/13). Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, la sensibilité était respectivement de 100 % (7/7) et 83,3 % (5/6). La spécificité globale des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt était de 99,8 % (1 630/1 634). Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, la spécificité était respectivement de 100 % (352/352) et 99,7 % (1 278/1 282). Le Tableau 10c donne les valeurs de spécificité et de sensibilité du test Aptima Combo 2 pour GC dans les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Concernant GC, la sensibilité s'échelonnait de 80,0 % à 100 %. La spécificité s'échelonnait de 99,0 % à 100 %.

La distribution par site clinique des dispositifs d'échantillonnage cervical de cette étude clinique est résumée dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Résumé concernant les dispositifs d'échantillonnage cervical utilisés dans l'étude des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Dispositif d'échantillonnage cervical	Site clinique de collecte						Total
	1	2	3	4	5	6	
Spatule/cytobrosse	0	124	475	287	57	364	1307
Dispositif endocervical de type balai	100	0	0	0	240	0	340

Tableaux des performances pour *Chlamydia trachomatis*Sensibilité et spécificité à *C. trachomatis* :

Tableau 5a : Échantillons du test Aptima Combo 2 comparés au statut des patients infectés

Échantillon		État des symptômes	N	TP	FP ^a	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Homme	Écouvillon	Sympt.	676	190	15 ^a	464	7	96,4 % (92,8 - 98,6)	96,9 % (94,9 - 98,2)
		Asympt.	388	70	5 ^b	309	4	94,6 % (86,7 - 98,5)	98,4 % (96,3 - 99,5)
		Tous ^c	1065	260	20 ^c	774	11	95,9 % (92,9 - 98,0)	97,5 % (96,1 - 98,5)
	Urine	Sympt.	694	199	8 ^d	484	3	98,5 % (95,7 - 99,7)	98,4 % (96,8 - 99,3)
		Asympt.	400	77	4 ^e	316	3	96,3 % (89,4 - 99,2)	98,8 % (96,8 - 99,7)
		Tous ^c	1095	276	12 ^f	801	6	97,9 % (95,4 - 99,2)	98,5 % (97,4 - 99,2)
Femme	Écouvillon	Sympt.	819	133	22 ^g	653	11	92,4 % (86,7 - 96,1)	96,7 % (95,1 - 97,9)
		Asympt.	569	61	6 ^h	501	1	98,4 % (91,3 - 100)	98,8 % (97,4 - 99,6)
		Tous ^g	1389	195	28 ⁱ	1154	12	94,2 % (90,1 - 97,0)	97,6 % (96,6 - 98,4)
	Urine	Sympt.	821	136	8 ^j	668	9	93,8 % (88,5 - 97,1)	98,8 % (97,7 - 99,5)
		Asympt.	569	60	5 ^k	502	2	96,8 % (88,8 - 99,6)	99,0 % (97,7 - 99,7)
		Tous ^g	1391	197	13 ^l	1170	11	94,7 % (90,7 - 97,3)	98,9 % (98,1 - 99,4)
Total	Écouvillon	Sympt.	1495	323	37 ^m	1117	18	94,7 % (91,8 - 96,8)	96,8 % (95,6 - 97,7)
		Asympt.	957	131	11 ⁿ	810	5	96,3 % (91,6 - 98,8)	98,7 % (97,6 - 99,3)
		Tous ^g	2454	455	48 ^o	1928	23	95,2 % (92,9 - 96,9)	97,6 % (96,8 - 98,2)
	Urine	Sympt.	1515	335	16 ^p	1152	12	96,5 % (94,0 - 98,2)	98,6 % (97,8 - 99,2)
		Asympt.	969	137	9 ^q	818	5	96,5 % (92,0 - 98,8)	98,9 % (97,9 - 99,5)
		Tous ^g	2486	473	25 ^r	1971	17	96,5 % (94,5 - 98,0)	98,7 % (98,2 - 99,2)

TP = vrai positif; FP = faux positif; TN = vrai négatif; FN = faux négatif.

¹ Comprend 1 sujet masculin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

² Comprend 1 sujet féminin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

³ Comprend 1 sujet masculin et 1 sujet féminin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

⁴ Les résultats du test TMA de remplacement pour CT représentent le nbre de résultats positifs/le nbre d'échantillons testés : a : 11/14; b : 3/5; c : 14/19; d : 4/8; e : 0/4; f : 4/12; g : 18/22; h : 4/6; i : 22/28; j : 2/8; k : 1/5; l : 3/13, m : 29/36, n : 7/11, o : 36/47, p : 6/16, q : 1/9, et r : 7/25.

Tableau 5b : Échantillons vaginaux sur écouvillon du test Aptima Combo 2 comparés à l'état d'infection des patients

Échantillon		État des symptômes	N	TP	FP ¹	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Collecté par la patiente	Écouvillon vaginal	Asympt.	628	60	18 ^a	549	1	98,4 % (91,2 - 100)	96,8 % (95,0 - 98,1)
		Sympt.	809	111	25 ^b	669	4	96,5 % (91,3 - 99,0)	96,4 % (94,7 - 97,7)
Collecté par un clinicien	Écouvillon vaginal	Asympt.	636	59	16 ^c	559	2	96,7 % (88,7 - 99,6)	97,2 % (95,5 - 98,4)
		Tous	1445	170	41 ^d	1228	6	96,6 % (92,7 - 98,7)	96,8 % (95,6 - 97,7)

TP = vrai positif; FP = faux positif; TN = vrai négatif; FN = faux négatif.

¹ Les résultats du test TMA d'amplification de remplacement pour CT représentent le nbre de résultats positifs/le nbre d'échantillons testés : a : 15/18, b : 17/25, c : 15/16, et d : 32/41.

Tableau 5c : Comparaison des échantillons PreservCyt du test Aptima Combo 2 à l'état d'infection des patients

État des symptômes	Résultats AC2/CT PreservCyt	Résultats				Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
		+/+	+/-	-/+	-/-		
Asympt.	Positif	58	1	0	6	96,7 % (88,5 - 99,6)	99,4 % (98,8 - 99,8)
	Négatif	2	1	12	1208		
	Total	60	2	12	1214		
Sympt.	Positif	29	0	0	5	96,7 % (82,8 - 99,9)	98,5 % (96,5 - 99,5)
	Négatif	1	3	4	317		
	Total	30	3	4	322		
Tous	Positif	87	1	0	11	96,7 % (90,6 - 99,3)	99,2 % (98,7 - 99,6)
	Négatif	3	4	16	1525		
	Total	90	5	16	1536		

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

C. trachomatis Performance par site clinique

Tableau 6a : Comparaison des échantillons du test Aptima Combo 2 à l'état d'infection des patients

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

TP = vrai positif; FP = faux positif; TN = vrai négatif; FN = faux négatif.

* Prévalence surestimée due au fait que la collecte initiale s'est limitée au dépistage des sujets symptomatiques.

Tableau 6b : Échantillons vaginaux sur écouvillon du test Aptima Combo 2 comparés à l'état d'infection des patients

Échantillon	Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	VPP (%)	VPN (%)	
Collecté par la patiente	Écouvillon vaginal	1	70	14	3	53	0	20,0	100 % (76,8 - 100)	94,6 % (85,1 - 98,9)	82,4	100
		2	45	13	3	29	0	28,9	100 % (75,3 - 100)	90,6 % (75,0 - 98,0)	81,3	100
		3	45	4	2	39	0	8,9	100 % (39,8 - 100)	95,1 % (83,5 - 99,4)	66,7	100
		4	152	6	3	142	1	4,6	85,7 % (42,1 - 99,6)	99,7 % (94,1 - 99,6)	66,7	99,3
		5	130	7	3	120	0	5,4	100 % (59,0 - 100)	97,6 % (93,0 - 99,5)	70,0	100
		6	75	8	2	65	0	10,7	100 % (63,1 - 100)	97,0 % (89,6 - 99,6)	80,0	100
		7	68	5	1	62	0	7,4	100 % (47,8 - 100)	98,4 % (91,5 - 100)	83,3	100
		8	43	3	1	39	0	7,0	100 % (29,2 - 100)	97,5 % (86,8 - 99,9)	75,0	100
		TOUS	628	60	18	549	1	9,7	98,4 % (91,2 - 100)	96,8 % (95,0 - 98,1)	76,9	99,8
Collecté par un clinicien	Écouvillon vaginal	1	227	34	9	182	2	15,9	94,4 % (81,3 - 99,3)	95,3 % (91,2 - 97,8)	79,1	98,9
		2	196	50	5	139	2	26,5	96,2 % (86,8 - 99,5)	96,5 % (92,1 - 98,9)	90,9	98,6
		3	113	9	3	101	0	8,0	100 % (66,4 - 100)	97,1 % (91,8 - 99,4)	75,0	100
		4	262	19	11	231	1	7,6	95,0 % (75,1 - 99,9)	95,5 % (92,0 - 97,7)	63,3	99,6
		5	199	13	2	184	0	6,5	100 % (75,3 - 100)	98,9 % (96,2 - 99,9)	86,7	100
		6	296	33	9	254	0	11,1	100 % (89,4 - 100)	96,6 % (93,6 - 98,4)	78,6	100
		7	102	9	1	91	1	9,8	90,0 % (55,5 - 99,7)	98,9 % (94,1 - 100)	90,0	98,9
		8	50	3	1	46	0	6,0	100 % (29,2 - 100)	97,9 % (88,7 - 99,9)	75,0	100
		TOUS	1445	170	41	1228	6	12,2	96,6 % (92,7 - 98,7)	96,8 % (95,6 - 97,7)	80,6	99,5

TP = vrai positif; FP = faux positif; TN = vrai négatif; FN = faux négatif.

Tableau 6c : Comparaison des échantillons PreservCyt du test Aptima Combo 2 à l'état d'infection des patients

Site	Résultats AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	VPP (%)	VPN (%)
1	Positif	14	0	0	2	14,0	100 % (76,8 - 100)	97,7 % (91,9 - 99,7)	87,5	100
	Négatif	0	0	1	83					
	Total	14	0	1	85					
2	Positif	4	0	0	0	3,2	100 % (39,8 - 100)	100 % (97,0 - 100)	100	100
	Négatif	0	0	2	118					
	Total	4	0	2	118					
3	Positif	29	0	0	2	6,5	93,5 % (78,6 - 99,2)	99,5 % (98,4 - 99,9)	93,5	99,5
	Négatif	2	0	2	440					
	Total	31	0	2	442					
4	Positif	8	1	0	4	2,8	100 % (63,1 - 100)	98,2 % (95,9 - 99,4)	61,5	100
	Négatif	0	2	1	271					
	Total	8	3	1	275					
5	Positif	13	0	0	2	4,7	92,9 % (66,1 - 99,8)	99,3 % (97,5 - 99,9)	86,7	99,6
	Négatif	1	1	4	276					
	Total	14	1	4	278					
6	Positif	19	0	0	1	5,2	100 % (82,4 - 100)	99,7 % (98,4 - 100)	95,0	100
	Négatif	0	1	6	337					
	Total	19	1	6	338					
Tous	Positif	87	1	0	11	5,5	96,7 % (90,6 - 99,3)	99,2 % (98,7 - 99,6)	87,9	99,8
	Négatif	3	4	16	1525					
	Total	90	5	16	1536					

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

Chlamydia trachomatis Analyse de l'état d'infection des patientes de sexe féminin

Tableau 7a : Écouvillon endocervical et échantillon d'urine

État d'infection de la patiente	TAAN 1		TAAN 2		Test Aptima Combo 2		État des symptômes	
	FU	FS	FU	FS	FU	FS	Sympt.	Asympt.
Infectée	S.O.	S.O.	+	+	+	+	1	0
Infectée	S.O.	+	S.O.	+	+	+	1	0
Infectée	S.O.	+	+	+	-	+	0	1
Infectée	-	+	S.O.	+	-	+	1	0
Infectée	-	+	-	+	-	+	4	0
Infectée	-	+	-	+	+	+	6	1
Infectée	-	+	+	+	-	+	1	0
Infectée	-	+	+	+	+	+	7	3
Infectée	+	S.O.	+	+	+	+	1	0
Infectée	+	-	S.O.	+	+	-	1	0
Infectée	+	-	+	-	-	-	1	0
Infectée	+	-	+	-	+	-	7	1
Infectée	+	-	+	-	+	+	2	1
Infectée	+	-	+	+	+	-	1	0
Infectée	+	-	+	+	+	+	3	3
Infectée	+	+	S.O.	+	+	+	6	2
Infectée	+	+	-	S.O.	+	+	1	0
Infectée	+	+	-	+	+	+	7	3
Infectée	+	+	+	S.O.	+	+	1	0
Infectée	+	+	+	-	+	+	2	2
Infectée	+	+	+	+	-	-	1	0
Infectée	+	+	+	+	-	+	1	1
Infectée	+	+	+	+	+	S.O.	1	0
Infectée	+	+	+	+	+	+	88	44
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	-	1	1
Non infecté	-	-	-	-	-	S.O.	2	1
Non infecté	-	-	-	-	-	-	648	497
Non infecté	-	-	-	-	-	+	18	4
Non infecté	-	-	-	-	+	-	4	3
Non infecté	-	-	-	-	+	+	4	2
Total							822	570

FU = urine féminine; FS = écouvillon endocervical féminin.

« S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test.

Tableau 7b : Échantillons vaginaux collectés par la patiente et par un clinicien à l'aide d'un écouvillon

État d'infection de la patiente	TAAN 1		TAAN 2 (Aptima Combo 2)		Test Aptima Combo 2		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infectée	+	+	+	+	+	+	79	43	122
Infectée	+	+	+	+	+	-	0	1	1
Infectée	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infectée	+	+	+	+	S.O.	-	1	0	1
Infectée	+	-	+	+	+	+	8	5	13
Infectée	+	-	+	+	-	-	1	0	1
Infectée	+	-	+	+	S.O.	+	1	0	1
Infectée	+	=	+	+	+	+	1	0	1
Infectée	-	+	+	+	+	+	8	3	11
Infectée	-	+	+	+	-	-	1	0	1
Infectée	-	-	+	+	+	+	1	2	3
Infectée	-	S.O.	+	+	+	+	1	0	1
Infectée	+	+	+	-	+	+	5	3	8
Infectée	+	-	+	-	+	+	5	0	5
Infectée	+	-	+	-	-	+	2	0	2
Infectée	+	+	-	+	+	+	0	1	1
Infectée	-	+	-	+	+	+	1	4	5
Infectée	-	+	-	+	+	-	1	0	1
Infectée	-	+	-	+	-	-	0	1	1
Non infecté	-	-	+	-	+	+	0	4	4
Non infecté	-	-	+	-	+	-	2	1	3
Non infecté	-	-	+	-	-	+	2	1	3
Non infecté	-	-	+	-	-	-	6	4	10
Non infecté	-	-	+	-	S.O.	+	1	0	1
Non infecté	-	-	+	-	S.O.	-	1	0	1
Non infecté	-	-	-	+	+	+	4	2	6
Non infecté	-	-	-	+	+	-	1	0	1
Non infecté	-	-	-	+	-	-	0	2	2
Non infecté	+	-	-	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	+	-	-	-	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	-	+	+	3	2	5
Non infecté	-	-	-	-	+	-	2	7	9
Non infecté	-	-	-	-	-	+	12	3	15
Non infecté	-	-	-	-	-	-	623	516	1139
Non infecté	-	-	-	-	-	S.O.	0	2	2
Non infecté	-	-	-	-	-	=	1	0	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	+	0	1	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	-	11	8	19
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	S.O.	1	0	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	=	0	1	1
Non infecté	-	-	-	-	=	+	0	1	1
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	-	2	2	4
Non infecté	-	S.O.	-	-	S.O.	-	0	1	1
Non infecté	-	=	-	-	-	-	12	9	21
Non infecté	-	=	-	-	-	S.O.	0	1	1

Tableau 7b : Échantillons vaginaux collectés par la patiente et par un clinicien à l'aide d'un écouvillon (suite)

État d'infection de la patiente	TAAN 1		TAAN 2 (Aptima Combo 2)		Test Aptima Combo 2		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sympt.	Asympt.	
Non infecté	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	0	1	1
Non infecté	-	-	S.O.	-	-	-	5	4	9
Non infecté	-	-	=	-	-	+	1	0	1
Non infecté	-	-	=	-	-	-	1	0	1
Total							811	640	1451

FS = écouvillon endocervical féminin; **FU** = urine féminine; **PVS** = échantillon vaginal collecté par des patientes asymptomatiques à l'aide d'un écouvillon; **CVS** = échantillon vaginal collecté par un clinicien à l'aide d'un écouvillon. « S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole égal (=) correspond à des résultats équivoques ou indéterminés après une nouvelle analyse.

Tableau 7c : Résultats pour l'état d'infection des patientes par *C. trachomatis* provenant de l'étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

État d'infection de la patiente	Résultat pour échantillon endocervical sur écouvillon		État des symptômes	
	AC2	ACT	Sympt.	Asympt.
Infectée	+	+	30	60
Non infectée	-	+	4	12
Non infectée	+	-	3	2
Non infectée	-	-	322	1214
Total			359	1288

Analyse de *C. trachomatis* pour l'état d'infection des patients de sexe masculin*Tableau 8 : Analyse des échantillons urétraux sur écouvillon et d'urine pour déterminer l'état d'infection par *C. trachomatis* des patients de sexe masculin*

État d'infection de la patiente	TAAN 1		TAAN 2	Test Aptima Combo 2		État des symptômes	
	MU	MS	MU	MU	MS	Sympt.	Asympt.
Infectée	S.O.	+	+	+	+	2	0
Infectée	-	+	+	+	+	10	4
Infectée	+	S.O.	+	+	S.O.	4	6
Infectée	+	S.O.	+	+	-	2	0
Infectée	+	S.O.	+	+	+	21	1
Infectée	+	-	+	+	-	3	3
Infectée	+	-	+	+	+	4	3
Infectée	+	+	S.O.	-	+	1	0
Infectée	+	+	S.O.	+	+	8	2
Infectée	+	+	-	+	+	12	4
Infectée	+	+	+	-	-	1	0
Infectée	+	+	+	-	+	1	3
Infectée	+	+	+	+	S.O.	1	0
Infectée	+	+	+	+	-	1	1
Infectée	+	+	+	+	+	131	53
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	0	2
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	13	8
Non infecté	-	-	-	-	-	461	303
Non infecté	-	-	-	-	+	10	5
Non infecté	-	-	-	+	-	3	4
Non infecté	-	-	-	+	+	5	0
Total						694	402

MU = urine masculine; **MS** = écouvillon urétral masculin.

« S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test.

Neisseria gonorrhoeae Tableaux de performance**N. gonorrhoeae** Sensibilité et spécificité

Tableau 9a : Échantillons du test Aptima Combo 2 comparés au statut des patients infectés

Échantillon		État des symptômes	N	TP	FP ^a	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Homme	Écouvillon	Sympt.	724	304	5 ^a	412	3	99,0 % (97,2 - 99,8)	98,8 % (97,2 - 99,6)
		Asympt.	378	15	12 ^b	351	0	100 % (78,2 - 100)	96,7 % (94,3 - 98,3)
		Tous ¹	1103	319	17 ^c	764	3	99,1 % (97,3 - 99,8)	97,8 % (96,5 - 98,7)
	Urine	Sympt.	750	311	1 ^d	433	5	98,4 % (96,3 - 99,5)	99,8 % (98,7 - 100)
		Asympt.	383	13	2 ^e	368	0	100 % (75,3 - 100)	99,5 % (98,1 - 99,9)
		Tous ¹	1134	324	3 ^f	802	5	98,5 % (96,5 - 99,5)	99,6 % (98,9 - 99,9)
Femme	Écouvillon	Sympt.	881	94	15 ^g	772	0	100 % (96,2 - 100)	98,1 % (96,9 - 98,9)
		Asympt.	596	31	2 ^h	562	1	96,9 % (83,8 - 99,9)	99,6 % (98,7 - 100)
		Tous ²	1479	126	17 ⁱ	1335	1	99,2 % (95,7 - 100)	98,7 % (98,0 - 99,3)
	Urine	Sympt.	883	87	7 ^j	782	7	92,6 % (85,3 - 97,0)	99,1 % (98,2 - 99,6)
		Asympt.	599	28	3 ^k	564	4	87,5 % (71,0 - 96,5)	99,5 % (98,5 - 99,9)
		Tous ²	1484	116	10 ^l	1347	11	91,3 % (85,0 - 95,6)	99,3 % (98,6 - 99,6)
Total	Écouvillon	Sympt.	1605	398	20 ^m	1184	3	99,3 % (97,8 - 99,8)	98,3 % (97,4 - 99,0)
		Asympt.	974	46	14 ⁿ	913	1	97,9 % (88,7 - 99,9)	98,5 % (97,5 - 99,2)
		Tous ³	2582	445	34 ^o	2099	4	99,1 % (97,7 - 99,8)	98,4 % (97,8 - 98,9)
	Urine	Sympt.	1633	398	8 ^p	1215	12	97,1 % (94,9 - 98,5)	99,3 % (98,7 - 99,7)
		Asympt.	982	41	5 ^q	932	4	91,1 % (78,8 - 97,5)	99,5 % (98,8 - 99,8)
		Tous ³	2618	440	13 ^r	2149	16	96,5 % (94,4 - 98,0)	99,4 % (99,0 - 99,7)

TP = vrai positif; FP = faux positif; TN = vrai négatif; FN = faux négatif.

¹ Comprend 1 sujet masculin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

² Comprend 1 sujet féminin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

³ Comprend 1 sujet masculin et 1 sujet féminin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

⁴ Les résultats du test TMA de remplacement pour GC représentent le nbre de résultats positifs/le nbre d'échantillons testés : a : 5/5, b : 12/12, c : 17/17, d : 0/1, e : 2/2, f : 2/3, g : 13/15, h : 2/2, i : 15/17, j : 4/7, k : 0/2, l : 4/9, m : 18/20, n : 14/14, o : 32/34, p : 4/8, q : 2/4, and r : 6/12.

Tableau 9b : Échantillons vaginaux sur écouvillon du test Aptima Combo 2 comparés à l'état d'infection des patients

Échantillon		État des symptômes	N	TP	FP ¹	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Collecté par la patiente	Écouvillon vaginal	Asympt.	629	21	3 ^a	605	0	100 % (83,9 - 100)	99,5 % (98,6 - 99,9)
Collecté par un clinicien	Écouvillon vaginal	Sympt.	807	51	7 ^b	747	2	96,2 % (87,0 - 99,5)	99,1 % (98,1 - 99,6)
		Asympt.	637	21	4 ^c	611	1	95,5 % (77,2 - 99,9)	99,3 % (98,3 - 99,8)
		Tous	1444	72	11 ^d	1358	3	96,0 % (88,8 - 99,2)	99,2 % (98,6 - 99,6)

TP = vrai positif; FP = faux positif; TN = vrai négatif; FN = faux négatif.

¹ Les résultats du test TMA d'amplification de remplacement pour GC représentent le nbre de résultats positifs/le nbre d'échantillons testés : a : 3/3, b : 6/7, c : 3/4, and d : 9/11.

Tableau 9c : Comparaison des échantillons PreservCyt du test Aptima Combo 2 à l'état d'infection des patients

État des symptômes	Résultats AC2/GC PreservCyt	Résultats AC2/GC PreservCyt				Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
		+/+	+/-	-/+	-/-		
Asympt.	Positif	5	0	1 ¹	3	83,3 % (35,9 - 99,6)	99,7 % (99,2 - 99,9)
	Négatif	1	0	5	1273		
	Total	6	0	6	1276		
Sympt.	Positif	7	0	0	0	100 % (59,0 - 100)	100 % (99,0 - 100)
	Négatif	0	0	0	352		
	Total	7	0	0	352		
Tous	Positif	12	0	1	3	92,3 % (64,0 - 99,8)	99,8 % (99,4 - 99,9)
	Négatif	1	0	5	1625		
	Total	13	0	6	1628		

¹ Un résultat discordant a été obtenu pour un échantillon : un résultat équivoque pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 et un résultat positif avec le test GC Aptima.

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

Neisseria gonorrhoeae Performance par site clinique

Tableau 10a : Échantillons du test Aptima Combo 2 comparés au statut des patients infectés

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

TP = vrai positif; FP = faux positif; TN = vrai négatif; FN = faux négatif.

* Prévalence surestimée due au fait que la collecte initiale s'est limitée au dépistage des sujets symptomatiques.

Tableau 10b : Échantillons vaginaux sur écouvillon du test Aptima Combo 2 comparés à l'état d'infection des patients

Échantillon	Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	VPP (%)	VPN (%)	
Collecté par la patiente	Écouvillon vaginal	1	70	5	1	65	0	7,1	100 % (47,8 - 100)	98,5 % (91,7 - 100)	83,3	100
		2	46	7	0	39	0	15,2	100 % (59,0 - 100)	100 % (91,0 - 100)	100	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100 % (15,8 - 100)	100 % (91,8 - 100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100 % (2,5 - 100)	100 % (97,6 - 100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100 % (2,5 - 100)	100 % (97,2 - 100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100 % (47,8 - 100)	97,1 % (90,1 - 99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0	S.O.	100 % (94,7 - 100)	S.O.	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	S.O.	100 % (91,8 - 100)	S.O.	100
		TOUS	629	21	3	605	0	3,3	100 % (83,9 - 100)	99,5 % (98,6 - 99,9)	87,5	100
Collecté par un clinicien	Écouvillon vaginal	1	227	12	3	212	0	5,3	100 % (73,5 - 100)	98,6 % (96,0 - 99,7)	80,0	100
		2	196	31	2	163	0	15,8	100 % (88,8 - 100)	98,8 % (95,7 - 99,9)	93,9	100
		3	113	3	0	109	1	3,5	75,0 % (19,4 - 99,4)	100 % (96,7 - 100)	100	99,1
		4	262	5	2	255	0	1,9	100 % (47,8 - 100)	99,2 % (97,2 - 99,9)	71,4	100
		5	198	2	0	196	0	1,0	100 % (15,8 - 100)	100 % (98,1 - 100)	100	100
		6	296	18	4	272	2	6,8	90,0 % (68,3 - 98,8)	98,6 % (96,3 - 99,6)	81,8	99,3
		7	102	0	0	102	0	0,0	S.O.	100 % (96,4 - 100)	S.O.	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100 % (2,5 - 100)	100 % (92,7 - 100)	100	100
		TOUS	1444	72	11	1358	3	5,2	96,0 % (88,8 - 99,2)	99,2 % (98,6 - 99,6)	86,7	99,8

TP = vrai positif; FP = faux positif; TN = vrai négatif; FN = faux négatif.

Tableau 10c : Comparaison des échantillons PreservCyt du test Aptima Combo 2 à l'état d'infection des patients

Site	Résultats AC2/GC PreservCyt	Résultats				Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)
		+/+	+/-	-/+	-/-					
1	Positif	5	0	0	0	5,0	100 % (47,8 - 100)	100 % (96,2 - 100)	100	100
	Négatif	0	0	0	95					
	Total	5	0	0	95					
2	Positif	1	0	0	0	0,8	100 % (2,5 - 100)	100 % (97,0 - 100)	100	100
	Négatif	0	0	0	123					
	Total	1	0	0	123					
3	Positif	4	0	0	0	1,1	80,0 % (28,4 - 99,5)	100 % (99,2 - 100)	100	99,8
	Négatif	1	0	0	470					
	Total	5	0	0	470					
4	Positif	1	0	0	0	0,3	100 % (2,5 - 100)	100 % (98,7 - 100)	100	100
	Négatif	0	0	3	283					
	Total	1	0	3	283					
5	Positif	0	0	0	3	0,0	S.O.	99,0 % (97,1 - 99,8)	0,0	100
	Négatif	0	0	0	294					
	Total	0	0	0	297					
6	Positif	1	0	1 ¹	0	0,3	100 % (2,5 - 100)	99,7 % (98,5 - 100)	50,0	100
	Négatif	0	0	2	360					
	Total	1	0	3	360					
Tous	Positif	12	0	1	3	0,8	92,3 % (64,0 - 99,8)	99,8 % (99,4 - 99,9)	75,0	99,9
	Négatif	1	0	5	1625					
	Total	13	0	6	1628					

¹ Un résultat discordant a été obtenu pour un échantillon : un résultat équivoque pour l'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 et un résultat positif avec le test GC Aptima.

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2/Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

Neisseria gonorrhoeae Analyse de l'état d'infection des patients de sexe féminin

Tableau 11a : Écouvillon endocervical et échantillon d'urine

État d'infection de la patiente	TAAN		Culture	Test Aptima Combo 2		État des symptômes	
	FU	FS	FS	FU	FS	Sympt.	Asympt.
Infectée	S.O.	+	+	+	+	1	1
Infectée	-	-	+	-	-	0	1
Infectée	-	+	+	-	+	5	2
Infectée	-	+	+	+	+	9	2
Infectée	+	S.O.	+	+	+	1	0
Infectée	+	-	+	+	+	3	1
Infectée	+	+	S.O.	+	+	0	1
Infectée	+	+	-	+	+	11	2
Infectée	+	+	+	-	+	2	1
Infectée	+	+	+	+	+	62	21
Non infectée	-	-	-	-	S.O.	2	3
Non infectée	-	-	-	-	-	768	559
Non infectée	-	-	-	-	+	12	2
Non infectée	-	-	-	+	-	4	3
Non infectée	-	-	-	+	+	3	0
Total						883	599

FU = urine féminine; FS = écouvillon endocervical féminin.

« S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test.

Tableau 11b : Analyse des échantillons vaginaux collectés par la patiente et par un clinicien à l'aide d'un écouvillon

État d'infection de la patiente	TAAN 1		TAAN 2		Test Aptima Combo 2		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infectée	+	+	+	+	+	+	44	15	59
Infectée	+	+	+	+	+	-	1	0	1
Infectée	+	+	+	+	S.O.	+	0	1	1
Infectée	+	-	+	+	+	+	2	2	4
Infectée	+	S.O.	+	+	+	+	1	0	1
Infectée	-	+	+	+	+	+	1	1	2
Infectée	-	-	+	+	+	+	1	1	2
Infectée	+	+	+	-	+	+	1	0	1
Infectée	+	-	+	-	+	+	1	1	2
Infectée	+	-	+	-	+	-	1	0	1
Infectée	+	+	-	+	+	+	1	0	1
Infectée	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infectée	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infectée	+	+	-	-	-	+	1	0	1
Non infecté	-	-	+	-	-	-	5	1	6
Non infecté	-	-	-	+	-	-	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	+	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	-	-	5	2	7
Non infecté	-	+	-	-	+	+	0	1	1
Non infecté	-	+	-	-	-	-	2	1	3
Non infecté	-	-	-	-	+	+	2	0	2
Non infecté	-	-	-	-	+	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	-	-	+	2	2	4
Non infecté	-	-	-	-	-	-	698	577	1275
Non infecté	-	-	-	-	-	S.O.	0	2	2
Non infecté	-	-	-	-	-	=	2	0	2
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	-	15	9	24
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	S.O.	1	0	1
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	-	2	2	4
Non infecté	-	S.O.	-	-	S.O.	-	0	1	1
Non infecté	-	=	-	-	-	-	11	10	21
Non infecté	-	=	-	-	-	S.O.	0	1	1
Non infecté	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	0	1	1
Non infecté	-	-	S.O.	-	-	-	5	4	9
Non infecté	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Total							810	640	1450

FS = écouvillon endocervical féminin; **FU** = urine féminine; **PVS** = échantillon vaginal collecté par des patientes asymptomatiques à l'aide d'un écouvillon; **CVS** = échantillon vaginal collecté par un clinicien à l'aide d'un écouvillon; « S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole égal (=) correspond à des résultats équivoques ou indéterminés après une nouvelle analyse.

N. gonorrhoeae Analyse de l'état d'infection des patients de sexe féminin

Tableau 11c : Résultats pour l'état d'infection des patients par
N. gonorrhoeae provenant de l'étude clinique des échantillons de
frottis en milieu liquide PreservCyt

État d'infection de la patiente	Résultat pour échantillon endocervical sur écouvillon		État des symptômes	
	AC2	AGC	Sympt.	Asympt.
Infectée	+	+	7	6
Non infectée	=	+	0	1
Non infectée	-	+	0	5
Non infectée	-	-	352	1276
Total			359	1288

N. gonorrhoeae Analyse de l'état d'infection des patients de sexe masculin

Tableau 12 : Écouvillon urétral et échantillon d'urine

État d'infection de la patiente	TAAN 1		Culture	Test Aptima Combo 2		État des symptômes	
	MU	MS	MS	MU	MS	Sympt.	Asympt.
Infectée	S.O.	+	+	+	+	1	0
Infectée	-	S.O.	+	S.O.	+	0	1
Infectée	-	S.O.	+	+	+	1	0
Infectée	-	-	+	-	-	1	0
Infectée	-	+	+	+	+	4	1
Infectée	+	S.O.	+	S.O.	+	0	1
Infectée	+	S.O.	+	+	S.O.	8	0
Infectée	+	S.O.	+	+	-	1	0
Infectée	+	S.O.	+	+	+	50	1
Infectée	+	-	+	+	+	4	1
Infectée	+	+	S.O.	+	+	1	0
Infectée	+	+	-	+	+	11	1
Infectée	+	+	+	-	-	1	0
Infectée	+	+	+	-	+	3	0
Infectée	+	+	+	+	S.O.	1	0
Infectée	+	+	+	+	+	229	9
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	0	1
Non infecté	-	-	-	S.O.	+	0	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	17	9
Non infecté	-	-	-	-	-	411	349
Non infecté	-	-	-	-	+	5	10
Non infecté	-	-	-	+	-	1	1
Non infecté	-	-	-	+	+	0	1
Total						750	387

MU = urine masculine; **MS** = écouvillon urétral masculin; « S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test.

Distribution des RLU des témoins Aptima

La distribution des RLU pour le contrôle positif, GC/contrôle négatif, CT Aptima et le contrôle positif, CT/contrôle négatif, GC Aptima pour toutes les séries de test Aptima Combo 2 effectuées lors des études d'échantillons cliniques est présentée ci-dessous dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Distribution du total de RLU des contrôles de test Aptima Combo 2

Témoins	Statistiques	Total de RLU (x1000)		
		Étude clinique des échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon et d'urine	Étude clinique des échantillons vaginaux sur écouvillon	Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt
Témoins positifs CT/témoins négatifs GC	Maximum	1572	1996	1747
	75 ^e centile	1160	1279	1264
	Médiane	1063	1135	1165
	25 ^e centile	996	933	1024
	Minimum	274	174	494
Témoins positifs GC/témoins négatifs CT	Maximum	1359	1420	1438
	75 ^e centile	1202	1255	1288
	Médiane	1093	1169	1201
	25 ^e centile	989	1084	1099
	Minimum	167	249	166

Étude de la précision

Des tests de précision ont été effectués dans trois sites pour obtenir les mesures de répétabilité et de reproductibilité. Des études de précision ont été effectuées dans le cadre de l'étude clinique sur les échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux masculins sur écouvillon et d'urine ainsi que dans celle portant sur les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Lors de l'étude précédente, chaque site avait reçu trois panels identiques de 13 échantillons contenant entre 0 et 500 fg de rRNA de CT, de 0 à 25 000 fg de rRNA de GC rRNA, ou des combinaisons de rRNA de CT et de GC. Les tests ont été effectués pendant trois jours en utilisant un lot de kit différent chaque jour. Les statistiques descriptives de l'ensemble des RLU, de l'intra-cycle, de l'inter-cycle et l'inter-site sont résumées au Tableau 14a.

Pour l'étude de précision suivante, la reproductibilité a été établie avec un panel de 12 membres généré en enrichissant la solution PreservCyt de 0 à 2 000 fg/test de CT et de 0 à 5 000 fg/test de rRNA de GC, et en aliquotant 1,0 mL dans le tube de prélèvement du kit de transfert d'échantillon Aptima. Deux (2) utilisateurs dans chacun des trois sites ont effectué une série par jour pendant trois jours, soit un total de trois séries valides par utilisateur. Les tests ont été effectués en utilisant un lot de kit de test. Les résultats de cette étude de précision sont résumés dans le Tableau 14b.

Dans les deux études, la reproductibilité a été établie en enrichissant le milieu de transport (STM, solution PreservCyt) avec rRNA. La reproductibilité lors des tests d'échantillons collectés à l'aide d'un écouvillon, d'urine, ou de frottis en milieu liquide PreservCyt contenant l'organisme cible n'a pas été déterminée.

Tableau 14a : Milieu de transport des écouvillons

Membre du panel	N	RLU moyenne (x1000)	Intra-série		D'une série à l'autre		D'un site à l'autre		
			SD (RLU)	CV (%)	SD (RLU)	CV (%)	SD (RLU)	CV (%)	
Élevé	Écouvillon CT	54	1055	76 588	7,3	83 711	7,9	150 332	14,2
	Double écouvillon*	54	2338	93 449	4,0	90 317	3,9	142 898	6,1
	Double urine*	54	2281	91 487	4,0	106 715	4,7	152 747	6,7
Moy.	Écouvillon GC	54	1265	30 561	2,4	55 642	4,4	34 413	2,7
	Écouvillon CT	54	1001	69 831	7,0	77 701	7,8	159 774	16,0
	Double écouvillon*	54	2241	152 377	6,8	58 353	2,6	139 983	6,2
Faible	Écouvillon GC	54	1249	35 142	2,8	60 638	4,9	46 364	3,7
	Écouvillon CT	54	1013	61 795	6,1	90 906	9,0	131 207	13,0
	Double écouvillon*	54	2085	286 034	13,7	161 764	7,8	58 837	2,8
	Double urine*	54	2201	95 705	4,3	118 760	5,4	106 802	4,9
Négatif	Écouvillon GC	54	1177	42 478	3,6	69 821	5,9	29 836	2,5
	Écouvillon Urine	54	7	1301	18,3	2311	32,5	1901	26,8
		54	7	861	12,0	2299	32,1	1994	27,9

* Les membres du panel doublement positifs contenaient du rRNA de CT et de GC.

Tableau 14b : Solution PreservCyt

Concentration (fg/test)		N	Concordance	RLU moyenne (x1000)	Intra-série		D'une série à l'autre		D'un site à l'autre		D'un utilisateur à l'autre	
CT	GC				SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
0	0	162	97,5 %	9,7	31,6	S.O.	3,4	S.O.	6,4	S.O.	4,7	S.O.
0	5000	54	96,3 %	1296	146	11,3	54,8	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0
2000	0	54	100 %	1140	54,1	4,7	79,8	7,0	101	8,9	2,4	0,2
2000	5000	54	100 %	2345	79,6	3,4	78,0	3,3	94,7	4,0	37,9	1,6
0	250	54	100 %	953	114	12,0	0,0	0,0	161	16,9	90,7	9,5
5	0	54	100 %	971	58,3	6,0	71,7	7,4	22,8	2,4	85,0	8,8
1000	2500	54	100 %	2294	114	5,0	88,9	3,9	153	6,7	0,0	0,0
100	250	54	98,1 %	1911	139	7,3	130	6,8	348	18,2	39,7	2,1
5	5000	54	100 %	2136	113	5,3	130	6,1	98,8	4,6	166	7,8
2000	250	54	96,3 %	2044	138	6,7	169	8,3	360	17,6	26,9	1,3

RLU = unité relative de lumière; SD = écart type; CV = coefficient de variation; S.O. représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour les membres de panel négatifs.

Les échantillons offrant des résultats discordants ou équivoques ont été inclus dans l'analyse de variabilité du signal.

Pour les valeurs CV et SD équivalant à 0,0, la variabilité due à cette source est très faible comparativement aux autres sources de variation.

Rendement analytique des DTS Systems

Consulter *Rendement analytique du Tigris DTS System* après le chapitre *Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System* pour connaître le rendement analytique spécifique au Tigris DTS System.

Consulter *Rendement analytique du Panther System* pour connaître le rendement analytique spécifique au Panther System.

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique (limites de détection) à *Chlamydia trachomatis* a été déterminée en comparant directement les dilutions des organismes CT dans la culture cellulaire et dans le test. La sensibilité analytique revendiquée pour le test est d'une IFU (unité de formation des inclusions) par test (7,25 IFU/écouvillon, 5,0 IFU/mL d'urine et 9,75 IFU/mL d'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt) pour l'ensemble des 15 sérotypes CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 et L3). Toutefois, les dilutions inférieures à 1,0 IFU/test de l'ensemble des sérotypes ont donné des résultats positifs avec le test Aptima Combo 2.

La sensibilité analytique à *Neisseria gonorrhoeae* a été déterminée en comparant directement les dilutions de 57 isolats cliniques différents par culture cellulaire et avec le test Aptima Combo 2 pour des échantillons sur écouvillon et d'urine et pour 20 isolats cliniques avec des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. La sensibilité analytique revendiquée pour le test est de 50 cellules/test (362 cellules/écouvillon, 250 cellules/mL d'urine et 488 cellules/mL d'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt). Toutefois, toutes les souches ont donné des résultats positifs avec moins de 50 cellules/test.

Spécificité analytique

Au total, 154 isolats de culture ont été évalués à l'aide du test Aptima Combo 2. Ces isolats comprenaient 86 organismes pouvant être isolés du tractus urogénital et 68 organismes supplémentaires qui représentent un échantillon phylogénétique d'organismes représentatif. Les organismes testés comprenaient des bactéries, des champignons, des levures, des parasites et des virus. Tous les organismes à l'exception de *C. psittaci*, de *C. pneumoniae*, et des virus ont été testés à $1,0 \times 10^6$ cellules/test à la fois dans le milieu de transport de l'écouvillon et dans celui de l'urine. Les organismes *Chlamydia* et *Neisseria* ont été testés dans le milieu PreservCyt. *C. psittaci* et *C. pneumoniae* ont été testés à $1,0 \times 10^5$ IFU/test. Les virus ont été analysés de la manière suivante : (a) virus herpès simplex I et II : $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) papillomavirus humain 16 : $2,9 \times 10^6$ copies de DNA/test et (c) cytomégalovirus : $4,8 \times 10^5$ cellules cultivées infectées/test. Seuls les échantillons CT et GC ont donné des résultats positifs avec le test Aptima Combo 2. La liste des organismes testés est indiquée au Tableau 15.

Tableau 15 : Spécificité analytique

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

« (n) » représente le nombre de souches testées.

Tous les organismes testés ont produit un résultat négatif dans le test Aptima Combo 2 basé sur le type de profil cinétique et les RLU.

Substances interférentes

Les substances interférentes suivantes ont été ensemencées individuellement dans des échantillons collectés à l'aide d'un écouvillon et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt : sang 10 %, gel contraceptif, spermicide, hydratant, anesthésiant hémorroïdal, huile corporelle, poudre, crème anti-fongique, lubrifiants vaginaux, vaporisateur intime et leucocytes ($1,0 \times 10^6$ cellules/mL). Les substances interférentes suivantes ont été ensemencées individuellement dans des échantillons d'urine : sang 30 %, analytes d'urine, protéines, glucose, cétones, bilirubine, nitrates, urobilinogène, pH 4 (acide), pH 9 (alcalin), leucocytes ($1,0 \times 10^6$ cellules/mL), débris cellulaires, vitamines, minéraux, acétaminophène,

aspirine et ibuprofène. Toutes ces substances ont été testées pour une interférence éventuelle au test en l'absence et en présence de CT et GC pour une concentration de rRNA estimée équivalente à 1,0 IFU de CT/test (5 fg/test) et 50 cellules de GC/test (250 fg/test). Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Aucune interférence n'a été relevée avec l'ensemble des substances testées. Aucun inhibiteur d'amplification n'a été observé avec le test Aptima Combo 2.

Récupération

Escherichia coli et *Gardnerella vaginalis* ($2,4 \times 10^5$ cellules/test) et *Lactobacillus acidophilus*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides ureolyticus* et *Staphylococcus epidermis* ($1,0 \times 10^8$ cellules/test) ont été ajoutés aux échantillons contenant une concentration de rRNA équivalente à environ 1,0 IFU de CT (5 fg) et 50 cellules de GC (250 fg). Ces ajouts n'ont pas interféré avec l'amplification ou la détection du rRNA de CT ou de GC en utilisant le test Aptima Combo 2.

Études de la stabilité des échantillons

A. Échantillons endocervicaux sur écouvillon

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon ont été générées avec des échantillons sur écouvillon négatifs groupés. Cinq échantillons groupés ont étéensemencés avec CT et GC à des concentrations finales respectives de 10 IFU et 100 CFU par réaction. Les échantillonsensemencés ont été conservés à -70 °C, à -20 °C, à 4 °C et à 30 °C. Les échantillons ont été testés en double aux jours 0, 20, 35, 60 et 90. Toutes les conditions de test étaient positives à la fois pour CT et pour GC pour toutes les durées et toutes les températures.

B. Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été générées à partir d'échantillons négatifs groupés de frottis en milieu liquide PreservCyt. Quatre échantillons groupés ont étéensemencés avec CT et GC à des concentrations finales respectives de 10 IFU et 100 CFU par réaction. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été placés à 30 °C pendant 7 jours, puis 1,0 mL de l'échantillon a été ajouté à un tube de transfert Aptima. Les échantillonsensemencés ont été maintenus à 4 °C, à 10 °C et à 30 °C. Les échantillons conservés à 4 °C et à 10 °C ont été testés en double aux jours 0, 6, 13, 26, 30 et 36. Les échantillons conservés à 30 °C ont été testés en double aux jours 0, 5, 8, 14 et 17. Quatre pools d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCytensemencés ont été ajoutés aux tubes de transfert Aptima et placés à 30 °C pendant 14 jours avant d'être conservés à -20 °C ou -70 °C. Les échantillons à -20 °C et ceux à -70 °C ont été testés en double après 0, 30, 60, 90 et 106 jours de conservation. Toutes les conditions de test étaient positives pour CT et GC pour toutes les durées et toutes les températures.

C. Échantillons vaginaux sur écouvillon

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons sur écouvillon vaginaux ont été générées avec des échantillons sur écouvillon négatifs groupés. Quinze pools d'échantillons vaginaux ont étéensemencés avec CT et GC à des concentrations finales respectives de 1,0 IFU et

50 CFU par réaction. Les échantillons ensemencés ont été conservés à -70 °C, à -20 °C, à 4 °C et à 30 °C. Les échantillons ont été testés en utilisant une aliquote aux jours 0, 20, 36, 73 et 114. Toutes les conditions de test étaient positives à la fois pour CT et pour GC pour toutes les durées et toutes les températures.

D. Échantillons d'urine

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons d'urine ont été générées avec 10 échantillons d'urine féminins et 10 échantillons d'urine masculins négatifs. Les échantillons d'urine ont été ensemencés avec CT et GC à des concentrations finales respectives de 10 IFU et 100 CFU par réaction. Les deux jeux d'échantillons d'urine ensemencés ont été maintenus à 4 °C et 30 °C pendant 24 heures avant d'être ajoutés au milieu de transport d'urine (UTM). Les deux jeux d'échantillons UTM ont été maintenus entre 4 °C et 30 °C et testés en triple aux jours 0, 1, 5, 20 et 35. Tous les échantillons ont été positifs pour CT et GC lorsque les échantillons d'urine ont été maintenus à 4 °C avant l'ajout de l'UTM. Lorsque les échantillons d'urine ont été maintenus à 30 °C avant l'ajout de l'UTM, tous les échantillons ont été positifs pour CT et 95 % l'ont été pour GC au Jour 35. Ces mêmes échantillons ont été testés après 116 jours de conservation à -20 °C et à -70 °C. Tous les échantillons ont été positifs pour CT et GC dans les deux conditions de conservation.

E. Étude de stabilité supplémentaire des échantillons congelés (à -20 °C)

Les données destinées à valider les conditions de conservation à -20 °C préconisées pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, d'urine féminins et masculins, et de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été obtenues à l'aide de 90 échantillons pour chaque type ayant produit un résultat négatif. Parmi ces échantillons, 30 d'entre eux ont été ensemencés avec CT et GC à 1,0 IFU et 50 CFU par réaction respectivement, 30 échantillons ont été ensemencés à 0,1 IFU et 5 CFU respectivement, et 30 échantillons n'ont pas été ensemencés. Les échantillons ont été conservés à -20 °C et puis analysés au jours 0, 200 et 400. Tous les échantillons ensemencés ont satisfait les critères d'acceptation, à savoir une concordance supérieure à 95 % avec les résultats attendus.

Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System

Concordance avec le Tigris DTS System

La concordance entre les résultats du Test Aptima Combo 2 générés par le Tigris DTS System entièrement automatique et les DTS Systems semi-automatiques a été évalué en testant les échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux masculins sur écouvillon, d'urine masculins et féminins, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt. Chacun des échantillons cliniques a été testé individuellement avec le Test Aptima Combo 2 sur le Tigris DTS System et les DTS Systems chez Hologic.

Étude de la concordance des échantillons cliniques — Échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, échantillons d'urine masculins et féminins

Des sujets masculins et féminins se rendant dans des cliniques pour ITS, des centres de soins d'urgence, des dispensaires, et des centres de planification familiale ont été inscrits dans sept sites cliniques géographiquement répartis avec des taux de prévalence variant de faible à élevé pour CT et GC. L'étude de la concordance des échantillons cliniques a évalué la concordance des deux systèmes en utilisant des échantillons sur écouvillon et d'urine de 485 sujets masculins et 576 sujets féminins. Sur les 1 991 échantillons testés, un faible pourcentage a donné initialement des résultats invalides ou équivoques pour CT ou GC sur le Tigris DTS System (20, 1,0 %) et sur les DTS Systems (14, 0,7 %). Lors de la répétition des tests, deux (2) échantillons cliniques ont donné des résultats GC équivoques sur le Tigris DTS System et n'ont pas été inclus dans les calculs d'équivalence. Le pourcentage de concordance globale ainsi que les pourcentages de concordances positifs et négatifs ont été calculés. Les échantillons donnant des résultats discordants entre les DTS Systems et le Tigris DTS System ont été testés avec les tests d'amplification de la TMA de remplacement pour CT et GC, qui sont des tests d'amplification de l'acide nucléique (TAAN) ciblant des séquences du rRNA de CT ou de GC différentes de celles ciblées avec le Test Aptima Combo 2. La répétition du Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems a été également effectuée sur des échantillons donnant des résultats discordants sur le Tigris DTS System et les DTS Systems.

Tableaux 16 et 17 donnent les concordances en pourcentage de l'ensemble pour tous les résultats de test mis en correspondance obtenus respectivement sur le Tigris DTS System et les DTS Systems pour les échantillons sur écouvillon et d'urine. La concordance globale était de 98,3 % pour les échantillons sur écouvillon et de 99,2 % pour les échantillons d'urine. Consulter les Tableaux 5a et 9a pour les estimations de la performance du test Aptima Combo 2 avec des échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux masculins sur écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine féminins et masculins testés sur les DTS Systems. Les estimations de la performance clinique du Tigris DTS System avec des échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux masculins sur écouvillon ainsi que des échantillons d'urine masculins et féminins devraient être similaires compte tenu de la concordance des résultats.

Étude de la concordance des échantillons cliniques – échantillons vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt

Des sujets féminins se rendant dans des centres pour ITS, des dispensaires, et des cliniques d'obstétrique/gynécologie ont fourni des échantillons vaginaux sur écouvillon et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Les échantillons vaginaux sur écouvillon ont été transférés directement chez Hologic pour être testés alors que les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été traités dans 2 laboratoires de cytopathologie avant

leur transfert. Chez Hologic, les échantillons vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt ont d'abord été analysés avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems. Les échantillons ayant des résultats définitifs invalides ou équivoques sur les DTS Systems n'ont pas été retenus pour des tests supplémentaires sur le Tigris DTS System. Les échantillons positifs avec le Test Aptima Combo 2 et un sous-ensemble d'échantillons négatifs avec le Test Aptima Combo 2 ont été sélectionnés pour des tests comparatifs sur le Tigris DTS System. Cent soixante-dix (170) échantillons vaginaux sur écouvillon et 170 échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt provenant de 181 sujets féminins ont été testés sur les deux systèmes. La majorité des échantillons (110 échantillons vaginaux sur écouvillon et 107 échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt) sélectionnés pour des tests comparatifs provenaient de femmes symptomatiques. Dix-sept (17) listes de travail ont été amorcées : 13 (76,5 %) étaient valides et 4 (23,5 %) ont été invalidées en raison d'un bruit de fond élevé détecté au luminomètre de l'appareil. L'appareil présentait des raccords Detect 1 et 2 lâches qui ont pu laisser l'air pénétrer dans les tubulures ou des quantités incorrectes de réactifs de détection s'injecter. Ces listes de travail se sont avérées valides lorsque le test a été répété. Sur les 340 échantillons testés, aucun n'a donné de résultats de test invalides ou équivoques sur le Tigris DTS System.

Tableaux 18 et 19 donnent le pourcentage de concordance globale concernant la détection de CT et de GC pour tous les résultats de test mis en correspondance obtenus sur le Tigris DTS System et les DTS Systems pour les échantillons vaginaux sur écouvillon et les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Les concordances globales étaient de 98,2 % pour les échantillons vaginaux sur écouvillon et de 98,2 % pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Consulter les Tableaux 5b, 5c, 9b, et 9c pour les estimations de la performance du Test Aptima Combo 2 pour les échantillons vaginaux sur écouvillon et les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt testés sur les DTS Systems. Les estimations de la performance clinique pour le Tigris DTS System avec des échantillons vaginaux sur écouvillon et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt devraient normalement être similaires compte tenu des résultats de la concordance.

Étude de la concordance du panel clinique CT/GC — échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, échantillons d'urine masculins et féminins

L'étude de concordance du panel clinique CT/GC a évalué l'équivalence entre les deux systèmes en utilisant 13 panels cliniques CT/GC préparés par Hologic et contenant de 0 à 2 500 unités de formation des inclusions (IFU)/mL de CT et/ou de 0 à 125 000 unités formatrices de colonie (CFU)/mL de GC. Les panels cliniques CT/GC ont été créés à partir d'échantillons sur écouvillon et d'urine collectés auprès de 222 sujets masculins et de 117 sujets féminins qui avaient été jugés non infectés en se basant sur les résultats du Test Aptima Combo 2 pour les échantillons sur écouvillon et d'urine négatifs avec les DTS Systems. Chacun des 13 panels CT/GC se composait de 5 réplicats de chaque type d'échantillon (écouvillon endocervical, écouvillon urétral masculin, échantillon d'urine féminin, échantillon d'urine masculin) pour un total de 20 réplicats par panel.

Le Tableau 20 donne le pourcentage de concordance avec les résultats CT et GC prévus pour le Tigris DTS System et pour les DTS Systems pour chacun des 13 panels CT/GC. Les concentrations s'échelonnaient de dix fois en dessous à 1 000 fois au-dessus des limites analytiques du test Aptima Combo 2 revendiquées pour 1 IFU/test pour CT et 50 CFU/test pour GC. Le Tableau 20 indique également le pourcentage de concordance globale (99,3 %) entre les résultats du panel CT/GC avec le Tigris DTS System et les DTS Systems. Les concordances positives et négatives sont indiqués dans les Tableaux 21 et 22 pour les résultats des panels CT et GC. Pour les panels d'écouvillons et d'urine, les concordances

positives étaient respectivement de 100 % et de 96,2 % pour CT, et toutes deux de 100 % pour GC. Les concordances négatives pour les écouvillons et l'urine étaient respectivement de 100 % et de 98,0 % pour CT, et toutes deux de 100 % pour GC. Trois des 5 réplicats des panels d'urine féminins, qui se situaient un log en dessous de la sensibilité analytique revendiquée de 1 IFU/test pour CT avec le Test Aptima Combo 2, ont donné des résultats CT- sur le Tigris DTS System. L'un des 5 réplicats du panel d'urine féminin provenant d'un panel distinct était CT- sur les DTS Systems.

Tableau 16 : Étude de concordance des échantillons cliniques : résultats pour les échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon¹

Tigris DTS System	DTS Systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	30	0	0	0	30
CT+/GC-	0	108	0	2 ⁵	110
CT-/GC+	1 ²	0	67	0	68
CT-/GC-	0	12 ³	2 ⁴	796	810
Total	31	120	69	798	1018
Pourcentage de concordance (IC à 95 %)	96,8 % (83,3 - 99,9)	90,0 % (83,2 - 94,7)	97,1 % (89,9 - 99,6)	99,7 % (99,1 - 100)	s.o.
Pourcentage de concordance globale (IC à 95 %) : 98,3 % (97,3-99,0)					

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, s.o. = sans objet

¹ Données non présentées : les résultats de deux échantillons étaient équivoques pour CT-/GC aussi bien sur le Tigris DTS System que les DTS Systems. Un échantillon a donné un résultat CT-/GC- sur Tigris DTS System, mais un résultat CT-/GC équivoque sur les DTS Systems. Lors d'un second test avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems, cet échantillon a donné un résultat CT-/GC-. L'échantillon a également donné un résultat GC- dans un test d'amplification TMA de remplacement.

² 1/1 était CT+/GC+ lors du second test sur les DTS Systems et CT+ lors du test d'amplification TMA de remplacement.

³ 11 échantillons sur 12 ont été analysés à nouveau. 11/11 étaient CT-/GC- lorsqu'ils ont été testés à nouveau avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems. 9/11 étaient CT- lors du test avec le test d'amplification TMA de remplacement et 2/11 étaient CT+.

⁴ 2/2 étaient CT-/GC- lors du second test avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems et GC- lors du test d'amplification TMA de remplacement.

⁵ 2/2 étaient CT-/GC- lors du second test avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems et CT- lors du test d'amplification TMA de remplacement.

Tableau 17 : Étude de concordance des échantillons cliniques : résultats pour les échantillons d'urine féminins et masculins

Tigris DTS System	DTS Systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	32	0	0	0	32
CT+/GC-	0	100	0	1 ³	101
CT-/GC+	0	0	52	0	52
CT-/GC-	0	8 ¹	1 ²	776	785
Total	32	108	53	777	970
Pourcentage de concordance (IC à 95 %)	100 % (89,1 - 100)	92,6 % (85,9 - 96,7)	98,1 % (89,9 - 100)	99,9 % (99,3 - 100)	s.o.
Pourcentage de concordance globale (IC à 95 %) : 99,2 % (98,1 - 99,5)					

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, s.o. = sans objet

¹ 7/8 étaient CT-/GC- lors du second test avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems et CT- lors du test d'amplification TMA de remplacement.

² 1/8 était CT+/GC- lors du second test avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems et CT+ lors du test d'amplification TMA de remplacement.

³ 1/1 était CT-/GC- lors du second test avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems et GC- lors du test d'amplification TMA de remplacement.

³ 1/1 était CT-/GC- lors du second test avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems et CT+ lors du test d'amplification TMA de remplacement.

Tableau 18 : Étude de concordance des échantillons cliniques : résultats pour les échantillons vaginaux sur écouvillon

Tigris DTS System	DTS Systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	26	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	2	46
CT-/GC+	0	0	24	0	24
CT-/GC-	0	0	1	73	74
Total	26	44	25	75	170
Pourcentage de concordance (IC à 95 %)	100 % (86,8 - 100)	100 % (92,0 - 100)	96,0 % (79,6 - 99,9)	97,3 % (90,7 - 99,7)	s.o.
Pourcentage de concordance globale (IC à 95 %) : 98,2 % (94,9 à 99,6)					

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, s.o. = sans objet.

Tableau 19 : Étude de concordance des échantillons cliniques : résultats pour les frottis en milieu liquide PreservCyt

Tigris DTS System	DTS Systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	26	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	1	45
CT-/GC+	0	0	24	0	24
CT-/GC-	0	1	1	73	75
Total	26	45	25	74	170
Pourcentage de concordance (IC à 95 %)	100 % (86,8 - 100)	97,8 % (88,2 - 99,9)	96,0 % (79,6 - 99,9)	98,6 % (92,7 - 100)	s.o.
Pourcentage de concordance globale (IC à 95 %) : 98,2 % (94,9 à 99,6)					

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, s.o. = sans objet.

Tableau 20 : Concordance avec les résultats CT et GC prévus pour les panels des écouvillons endocervicaux, des écouvillons urétraux masculins, et des échantillons d'urine masculins et féminins

Membre du panel CT/GC	Concentration des échantillons du panel ¹		Réplicats	CT		GC	
	CT	GC		Tigris	DTS	Tigris	DTS
	IFU/mL	CFU/mL		%Concord.	%Concord.	%Concord.	%Concord.
Faible/Faible	2,5	125	20	100	100	100	100
Faible/Élevée	2,5	125 000	20	100	95 ³	100	100
Élevée/Faible	2500	125	20	100	100	100	100
Élevée/Élevée	2500	125 000	20	100	100	100	100
Très faible/Nég.	0,25 ²	0	20	85 ⁴	100	100	100
Faible/Nég.	2,5	0	20	100	100	100	100
Moyen/Nég.	25	0	20	100	100	100	100
Élevée/Nég.	2500	0	20	100	100	100	100
Nég./Très faible	0	12,5	20	100	100	100	100
Nég./Faible	0	125	20	100	100	100	100
Nég./Moyen	0	1250	19	100	100	100	100
Nég./Élevée	0	125 000	20	100	100	100	100
Nég./Nég.	0	0	20	100	100	100	100

Pourcentage de concordance globale entre Tigris et DTS (IC à 95 %) : 99,3 % (98,3 à 99,8)

IFU = unités de formation d'inclusions, CFU = unités de formation de colonies, %concord. Tigris = concordance entre les résultats attendus et Tigris, %concord. DTS = concordance entre les résultats attendus et DTS.

¹ Un tube de prélèvement contient environ 2,9 mL de milieu de transport pour les échantillons sur écouvillon et 4,0 mL de milieu de transport/mélange pour urine pour les échantillons d'urine.

² La concentration de CT dans ce membre du panel clinique CT/GC se situe un log en dessous de la sensibilité analytique revendiquée pour le Test Aptima Combo 2 qui est de 1 IFU/test (7,25 IFU/écouvillon, 5 IFU/mL d'urine).

³ Un des 5 panels d'urine de sujets féminins était CT- sur les DTS Systems.

⁴ Trois des 5 réplicats du panel d'urine féminine étaient CT- sur le Tigris DTS System.

Tableau 21 : Étude de la concordance du panel clinique CT/GC : résultats CT pour les panels endocervicaux, urétraux sur écouvillon et d'urine féminine et masculine

Échantillon	N	DTS+	DTS+	DTS-	DTS-	Concordance positive (IC à 95 %)	Concordance négative (IC à 95 %)
		Tigris+ n	Tigris- n	Tigris+ n	Tigris- n		
Écouvillon	129	80	0	0	49	100 (95,5 - 100)	100 (92,7 - 100)
Urine	130	76	3 ¹	1 ²	50	96,2 (89,3 - 99,2)	98,0 (89,6 - 100)

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, IC = intervalle de confiance.

¹ Trois des 5 réplicats des panels d'urine féminins, qui se situaient un log en dessous de la sensibilité analytique revendiquée de 1 IFU/test pour CT avec le Test Aptima Combo 2, ont donné des résultats CT- sur le Tigris DTS System.

² Un des 5 panels d'urine de sujets féminins était CT- sur les DTS Systems.

Tableau 22 : Étude de la concordance du panel clinique CT/GC : résultats GC pour les panels endocervicaux, urétraux sur écouvillon et d'urine féminine et masculine

Échantillon	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Concordance positive (IC à 95 %)	Concordance négative (IC à 95 %)
Écouvillon	129	79	0	0	50	100 (95,4 - 100)	100 (92,9 - 100)
Urine	130	80	0	0	50	100 (95,5 - 100)	100 (92,9 - 100)

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, IC = intervalle de confiance, Tigris = Tigris DTS System.

Étude de la précision

La précision du Tigris DTS System (c.-à-d. la reproductibilité) a été évaluée chez Hologic et dans un site clinique externe. La précision du Test Aptima Combo 2 a été évaluée sur trois Tigris DTS Systems, dans deux sites d'étude, avec deux lots de kit de tests Aptima Combo 2 et par quatre utilisateurs. Tableau 23 le présente les données de précision RLU en termes de moyenne, d'écart-type, de coefficient de variation (CV) et de pourcentage d'accord avec les résultats attendus des calculs de variabilité entre sites, entre utilisateurs, entre lots, entre séries et intra-série.

Au site externe, deux utilisateurs ont effectué trois listes de travail (c.-à-d., des séries) par lot de kit de tests Aptima Combo 2 sur un Tigris DTS System, effectuant au total 6 listes de travail chacun. Chez Hologic, deux utilisateurs ont effectué trois listes de travail par lot de kit de tests Aptima Combo 2 sur chacun des deux Tigris DTS Systems, effectuant au total 12 listes de travail chacun. Il y a donc eu au total 36 listes de travail effectuées. Chaque liste de travail se composait de six panels de précision identiques de 12 membres contenant de 0 à 2 000 fg/test de rRNA de CT et/ou de 0 à 2 433 fg/test de rRNA de GC. Chaque liste de travail se composait de six panels de précision identiques de 12 membres contenant de 0 à 2 000 fg/test de rRNA de CT et/ou de 0 à 5 000 fg/test de rRNA de GC. Les membres des panels contenant CT et GC ont été classés comme ayant des concentrations de CT faibles (5 ou 100 fg/test), moyennes (1 000 fg/test) ou élevées ($\geq 2 000$ fg/test) et ayant des concentrations de GC faibles (≤ 250 fg/test), moyenne (environ 2 400 fg/test) ou élevées (5 000 fg/test). La reproductibilité a été établie en ensemençant le milieu de transport de l'écouvillon avec du rRNA. La reproductibilité lors des tests d'échantillons sur écouvillon et urinaires contenant l'organisme cible n'a pas été déterminée. La précision a été estimée conformément aux directives EP5-A du NCCLS (22).

Tableau 23 : Données de précision pour le Tigris DTS System

Conc.		N	RLU moy- enne (x 1000)	% Con- cord.	Intra-série		D'un site à l'autre		D'un lot à l'autre		D'un utilisateur à l'autre		D'une série à l'autre	
CT	GC				SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)
Nég.	Nég.	647	4	100	1,25	26,2	0,66	13,9	0,05	1,0	0,08	1,7	0,30	6,4
Nég.	Élevé	215	1216	100	28,5	2,3	61,2	5,0	10,0	0,8	0	0	17,1	1,4
Élevé	Nég.	216	1266	100	38,8	3,0	0	0	93,1	7,3	40,8	3,2	40,4	3,1
Élevé	Élevé	210	2445	100	54,2	2,2	40,0	1,6	110,3	4,5	28,4	1,1	52,3	2,1
Nég.	Faible ¹	217	1132	100	30,3	2,6	61,0	5,3	0	0,0	20,7	1,8	18,5	1,6
Faible ¹	Nég.	214	1053	100	72,8	6,9	1,5	0,1	73,8	7,0	28,5	2,7	26,9	2,5
Moy.	Moy.	214	2429	100	48,8	2,0	40,0	1,6	101,1	4,1	0	0	52,9	2,1
Faible ¹	Faible ¹	216	2112	99,5	112,3	5,3	84,1	3,9	33,2	1,5	34,2	1,6	52,9	2,5
Faible ¹	Élevé	216	2282	100	77,3	3,3	97,8	4,2	59,3	2,6	0	0	41,7	1,8
Élevé	Faible ¹	215	2318	100	61,1	2,6	50,7	2,1	86,2	3,7	4,6	0,2	42,4	1,8

SD = écart-type, %CV = pourcentage du coefficient de variation, %Concord. = pourcentage de concordance, Conc. = concentration.

Remarque : La variabilité découlant de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Si tel est le cas, la variabilité mesurée avec l'écart-type et le %CV est fixée à zéro. Consulter les directives EP5-A approuvées par le NCCLS (22).

¹Des échantillons de panel à faible concentration ont étéensemencés aux seuils de sensibilité analytique revendiqués pour le test (5 fg de rRNA de CT/test, 250 fg de rRNA de GC/test, ou les deux pour l'échantillon doublement positif). Pour CT, le niveau cible testé équivaut approximativement à 36 fg/écouvillon et à 25 fg/mL d'urine. Pour GC, le niveau cible testé équivaut approximativement à 1 800 fg/écouvillon et à 1 250 fg/mL d'urine. En se basant sur la taille du génome et le rapport estimé DNA/RNA par cellule pour chaque organisme, 5 fg équivaut à 1 IFU de CT et 250 fg équivaut à 50 cellules de GC.

Rendement analytique du Tigris DTS System

Consulter *Rendement analytique du Panther System* pour connaître le rendement analytique spécifique au Panther System.

Étude de l'équivalence de la sensibilité analytique

Les dilutions de trois sérotypes CT (E, F, G) associés aux infections de l'appareil génito-urinaire ont été testés sur les trois appareils du Tigris DTS System et parallèlement sur les DTS Systems. Les sérotypes CT ont été dilués dans le milieu de transport pour écouvillon et un pool d'échantillons d'urine traités. Les concentrations variaient de 3 unités de formation des inclusions (IFU) par test à 0,1 IFU par test, soit un log en dessous de la sensibilité analytique revendiquée pour le test d'une IFU par test (7,25 IFU/écouvillon, 5 IFU/mL d'urine). La positivité en pourcentage entre le Tigris DTS System et les DTS Systems équivalait à un intervalle de confiance de 95 % pour les trois sérotypes jusqu'au taux de sensibilité analytique revendiqué. Les dilutions inférieures à ce taux ont aussi donné des résultats positifs sur les deux plateformes. Une sensibilité comparable a été démontrée à un seuil de détection d'une IFU par test entre le Tigris DTS System et les DTS Systems sur l'ensemble.

Un panel de sensibilité d'un pool d'échantillons vaginaux et un panel de sensibilité d'un pool d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement ont été préparés à une concentration de 5 fg de rRNA de CT et 60 réplicats ont été testés sur le Tigris DTS System. Le pourcentage de positivité avec le Tigris DTS System (IC à 95 %) était de 100 % (95,1 à 100) pour les échantillons vaginaux sur écouvillon et de 100 % (95,1 à 100) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement.

Les dilutions de trois isolats cliniques de GC ont été testés sur le Tigris DTS System et en parallèle sur les DTS Systems. Les isolats de GC ont été dilués dans le milieu de transport pour écouvillon et un pool d'échantillons d'urine traités. Les concentrations variaient de 150 cellules par test à 5 cellules par test, soit un log en dessous de la sensibilité analytique revendiquée pour le test de 50 cellules/test (362 cellules/écouvillon, 250 cellules/mL d'urine). La positivité en pourcentage entre le Tigris DTS System et les DTS Systems équivalait à un intervalle de confiance de 95 % pour les trois sérotypes jusqu'au taux de sensibilité analytique revendiqué. Les dilutions inférieures à ce taux ont aussi donné des résultats positifs sur les deux plateformes. Une sensibilité comparable a été démontrée à un seuil de détection de 50 cellules par test entre le Tigris DTS System et les DTS Systems sur l'ensemble.

Un panel de sensibilité d'un pool d'échantillons vaginaux et un panel de sensibilité d'un pool d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement ont été préparés à une concentration de 250 fg de rRNA de GC et 60 réplicats ont été testés sur le Tigris DTS System. Le pourcentage de positivité avec le Tigris DTS System (IC à 95 %) était de 100 % (95,1 à 100) pour les échantillons vaginaux sur écouvillon et de 100 % (95,1 à 100) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement.

Étude des panels cliniques enrichis avec du rRNA de CT/GC – échantillons vaginaux sur écouvillon et échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

L'étude des panels cliniques enrichis avec du rRNA de CT/GC a évalué la concordance entre les deux systèmes en utilisant deux panels cliniques CT/GC préparés par Hologic et enrichis avec de 0 à 5 000 fg de rRNA/test de CT et/ou de 0 à 250 000 fg de rRNA/test de GC. Les panels cliniques CT/GC ont été créés à partir d'échantillons vaginaux sur écouvillon

et d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt collectés sur 309 sujets féminins dont les échantillons avaient donné des résultats négatifs avec le Test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems lorsqu'ils ont été testés chez Hologic. Les échantillons négatifs ont été groupés par type d'échantillon, ensemencés ou non ensemencés avec du rRNA de CT et/ou de GC et aliquotés comme réplicats de chaque échantillon du panel. Les réplicats de chacun des 13 échantillons du panel ensemencés avec des concentrations de rRNA différentes ont été combinés pour créer un panel clinique pour chaque type de prélèvement. Chaque panel contenait un total de 132 réplicats.

Un réplicat d'écouvillon vaginal provenant d'un échantillon de panel ayant une très faible concentration de CT (0,05 fg de rRNA/test) a donné un résultat CT équivoque sur les DTS Systems.

Le Tableau 24 indique la concordance en pourcentage de chaque taux de rRNA dans les panels respectifs des écouvillons vaginaux et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, avec les résultats CT et GC attendus pour le Tigris DTS System et les DTS Systems. Les concentrations s'échelonnaient de 1 log en dessous à 3 log au-dessus des 5 fg de rRNA/test pour CT et 250 fg de rRNA/test pour GC. Le Tableau 24 indique également les concordances en pourcentage d'ensemble (99,2 % pour le panel des écouvillons vaginaux et 100 % pour le panel des échantillons de frottis en milieu PreservCyt).

Tableau 24 : Étude de concordance des panels cliniques enrichis avec du rRNA de CT/GC : concordance avec les résultats CT et GC attendus pour le panel des écouvillons vaginaux et le panel des échantillons de frottis en milieu PreservCyt

Membre du panel CT/GC	Concentration (fg de rRNA/test)		Réplicats	Panel des écouvillons vaginaux				Panel de frottis en milieu liquide PreservCyt			
	CT	GC		CT		GC		CT		GC	
				Tigris %Concord.	DTS %Concord.	Tigris %Concord.	DTS %Concord.	Tigris %Concord.	DTS %Concord.	Tigris %Concord.	DTS %Concord.
Faible/Faible	5	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Faible/Élevée	5	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Élevée/Faible	5000	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Élevée/Élevée	5000	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Très faible/Nég.	0,5	0	10	100	88,9 ¹	100	100	100	100	100	100
Faible/Nég.	5	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Moyen/Nég.	50	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Élevée/Nég.	5000	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nég./Très faible	0	25	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nég./Faible	0	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nég./Moyen	0	2500	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nég./Élevée	0	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nég./Nég.	0	0	12	100	100	100	100	100	100	100	100
Pourcentage de concordance globale entre Tigris et DTS (IC à 95 %) :						Pourcentage de concordance globale entre Tigris et DTS (IC à 95 %) :					
99,2 % (95,8 - 100)						100 % (97,2 - 100)					

DTS %Concord. = concordance entre les DTS Systems et les résultats attendus, Tigris%Concord. = concordance entre le Tigris DTS System et les résultats attendus.

¹ 1 réplicat sur 10 a donné un résultat CT équivoque sur les DTS Systems et a été exclu de cette analyse. 8/9 ont concordé avec les résultats attendus. 1/9 était CT- sur les DTS Systems. La concentration CT de ce membre du panel est 1 log en dessous de 5 fg de rRNA/test.

Étude de l'équivalence de la spécificité analytique

Pour un test d'amplification de l'acide nucléique, la spécificité analytique concernant les organismes individuels est en grande partie déterminée par la chimie du test (par ex., séquences d'oligonucléotides) plutôt que par la plate-forme. Étant donné que les réactifs du Test Aptima Combo 2 sont identiques entre le Tigris DTS System et les DTS Systems, les expérimentations de spécificité analytique sur le Tigris DTS System étaient destinées à porter sur les isolats de culture les plus complexes. Parmi ces organismes figuraient ceux qui sont connus pour avoir une réactivité croisée dans d'autres tests d'amplification. Vingt-quatre (24) isolats de culture ont été sélectionnés dans le panel d'organismes du Tableau 15, y compris 3 organismes qui sont très étroitement liés à CT et 17 organismes étroitement liés à GC. Tous les organismes testés ont donné des résultats négatifs sur le Tigris DTS System.

Étude de l'équivalence des substances interférentes

Le sang, une substance que l'on trouve couramment dans les échantillons génito-urinaires, peut interférer avec certains tests d'amplification. Le sang total a été utilisé pour établir le degré d'interférence du sang sur le Tigris DTS System et l'équivalence entre le Tigris DTS System et les DTS Systems concernant ce potentiel d'interférence. Du sang frais a été ajouté aux pools d'écouvillons cliniques, d'écouvillons vaginaux, d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt déjà traités et d'échantillons d'urine, puis testés pour toute interférence éventuelle avec le test en l'absence ou en présence de CT et GC cible. Une concentration de rRNA estimée équivalente à une IFU de CT/test (5 fg/test) et à 50 cellules de GC/test (250 fg/test) a été utilisée étant donné qu'elle représente la sensibilité analytique du test. Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme. Les échantillons ont été testés sur deux Tigris DTS Systems. Tous les échantillons contenant de l'acide nucléique cible étaient positifs lorsqu'ils ont été testés à un taux de 10 % (vol/vol) de sang dans les échantillons sur écouvillon, les échantillons vaginaux sur écouvillon, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement et 30 % (vol/vol) de sang dans les échantillons d'urine. Tous les échantillons qui ne contenaient pas la cible ont été correctement identifiés comme étant négatifs à CT et GC. Ces résultats sont identiques à ceux démontrés pour les DTS Systems lorsqu'ils sont enrichis avec les mêmes quantités de sang.

Le sang ajouté aux écouvillons, aux écouvillons vaginaux, aux échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement et aux échantillons d'urine à des taux bien supérieurs à ce que l'on pourrait s'attendre avec une collecte d'échantillons normal, n'a pas interféré avec les résultats sur le Tigris DTS System.

Études de la contamination de transfert pour le Tigris DTS System

Afin d'établir que le Tigris DTS System minimise les risques de résultats faussement positifs liés à une contamination de transfert, une étude analytique de plusieurs jours a été réalisée à l'aide de panelsensemencés sur trois Tigris DTS Systems. L'étude a utilisé 20 % des échantillons avec une valeur cible élevée contenant $1,0 \times 10^9$ cellules/réaction, qui ont été aléatoirement répartis parmi les 80 % d'échantillons négatifs contenant le milieu de transport de l'écouvillon. Pendant la durée de l'étude, 1 372 échantillons avec une valeur cible élevée et 5 516 échantillons négatifs ont été testés sur les trois Tigris DTS Systems. Le taux de contamination de transfert global, résultats faussement positifs et équivoques compris, a été en moyenne de 0,3 % (18/5 491). Au total, 25 échantillons négatifs ont été signalés comme invalides et exclus des calculs. Une analyse distincte a été effectuée sur un sous-ensemble de la population de l'étude constitué des échantillons négatifs testés immédiatement à la suite des résultats positifs avec une valeur cible élevée. Le taux de contamination de transfert pour ce sous-ensemble de la population, résultats faussement positifs et équivoques

compris, a été en moyenne de 1,1 % (12/1 097). Concernant les résultats faussement positifs de ce sous-ensemble, le taux de contamination de transfert a varié de 0 % à 1,1 % sur les trois Tigris DTS Systems. Concernant les résultats équivoques de ce sous-ensemble, le taux de contamination de transfert a varié de 0 % à 0,9 % sur les trois Tigris DTS Systems. Ces résultats indiquent que la contamination est minimisée sur le Tigris DTS System.

Rendement analytique du Panther System

Étude de reproductibilité

La reproductibilité du test Aptima Combo 2 a été évaluée dans deux laboratoires américains externes et chez Hologic à l'aide du Panther System. Les tests ont été effectués sur une période de six jours à l'aide de deux lots de kit de réactifs et par six utilisateurs au total (deux à chaque site). Les membres du panel de reproductibilité ont été créés en utilisant des échantillons cliniques d'urine. Les membres du panel positifs pour CT et GC ont été créés en utilisant des échantillons de personnes naturellement infectées ou des échantillons positifs pour CT et/ou GC groupés ayant été dilués avec un volume provenant d'échantillons négatifs groupés afin d'obtenir des membres du panel ayant des gammes RLU cibles moyennes attendues (positives ou faiblement positives).

Le Tableau 25 présente, pour chaque membre du panel, les données de RLU pour ce qui est des valeurs moyennes, de l'écart-type (SD) et du coefficient de variation (CV) entre sites, entre utilisateurs, entre lots, entre séries, au sein d'une même série et de manière globale. Le pourcentage de concordance avec les résultats attendus est également présenté. Les échantillons ayant des résultats valides ont été inclus dans les analyses.

Tableau 25 : Données de reproductibilité du Panther System

Membre du panel CT/GC	Concordants/N	Concord. (%)	RLU moyenne (x1000)	Entre sites		Entre utilisateurs		Entre lots		Entre séries		Dans une même série		Total	
				SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
Nég./Nég.	108/108	100	5,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	11,3	0,3	5,5	0,6	10,4	0,9	16,3
Pos./Nég.	107/108	99,1	1049,5	27,2	2,6	53,4	5,1	0,0	0,0	42,7	4,1	115,9	11,0	137,3	13,1
Faible/Nég.	107/107 ¹	100	637,0	20,4	3,2	34,4	5,4	38,5	6,0	38,4	6,0	153,5	24,1	167,7	26,3
Nég./Pos.	108/108	100	1170,9	32,7	2,8	6,6	0,6	32,4	2,8	17,5	1,5	24,5	2,1	55,4	4,7
Nég./Faible	103/108	95,4	354,9	58,6	16,5	65,6	18,5	0,0	0,0	0,0	0,0	178,7	50,3	199,1	56,1
Pos./Pos.	107/107 ¹	100	2180,8	52,4	2,4	0,0	0,0	0,0	0,0	55,4	2,5	78,0	3,6	109,1	5,0

Concord. = concordance, CV = coefficient de variation, Faible = faiblement positif, N = nombre de membres du panel,

Nég. = négatif, Pos. = positif, SD = écart-type.

¹ Un résultat invalide a été exclu de l'analyse.

Remarque : La variabilité découlant de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Si tel est le cas, la variabilité mesurée avec l'écart-type et le % CV est fixée à zéro.

Étude de sensibilité analytique

La sensibilité analytique du test Aptima Combo 2 a été évaluée en utilisant des échantillons d'urine traités avec un milieu de transport d'urine (UTM), des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt dilué avec un milieu de transport de l'écouvillon (STM), des échantillons vaginaux sur écouvillon et des échantillons STM. Les panels ont été créés en ensemençant les organismes CT et GC dans des groupes de quatre matrices à 0,25 IFU/mL ou à 2,5 IFU/mL pour CT, ou à 12,5 CFU/mL ou à 125 CFU/mL pour GC. Ces panels ont été testés sur trois Panther Systems avec deux lots de réactifs pendant quatre jours pour un total de 60 réplicats par membre du panel. La concordance avec les résultats attendus a été calculé. La concordance avec les résultats attendus était de 100 % (IC de 95 % 95,7 - 100 %) pour tous les panels d'urine, tous les panels de frottis en milieu liquide PreservCyt, tous les panels d'écouvillons vaginaux et tous les panels STM. La sensibilité analytique du test Aptima Combo 2 était de 2,5 IFU/mL pour CT et de 125 CFU/mL pour GC.

Étude de la spécificité analytique

La spécificité analytique n'a pas été évaluée pour le Panther System. Consulter *Rendement analytique du Tigris DTS System pour Étude de l'équivalence de la spécificité analytique*.

Substances interférentes

Les substances interférentes n'ont pas été testées sur le Panther System. Consulter *Rendement analytique du Tigris DTS System pour Étude de l'équivalence des substances interférentes*.

Études de contamination par transfert pour le Panther System

Une étude analytique échelonnée a été réalisée en utilisant des panelsensemencés sur trois Panther Systems. La contamination de transfert a été évaluée en répartissant des échantillons avec un titre élevé de GC parmi les échantillons négatifs (environ 20 % du total). Les séries comprenaient des regroupements d'échantillons fortement positifs et des regroupements d'échantillons négatifs ainsi que des échantillons fortement positifs isolés répartis dans la série. Des échantillons à titre élevé ont été créés avec du rRNA de GCensemencé dans du STM pour donner une concentration finale équivalente à $2,5 \times 10^5$ CFU/mL. L'analyse a été réalisée pour 5 séries sur chacun des trois systèmes Panther. Le taux de contamination de transfert a été calculé à partir de 2 938 résultats négatifs valides au total. Le taux de contamination de transfert global était de 0 % avec un intervalle de confiance de 95 % de 0 à 0,1 %.

Bibliographie

1. **Beem, M. O., and E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. *NEJM* **296**:306-310.
2. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, and H. H. Lee.** 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. *J. Clin. Microbiol.* **34**:2395-2400.
3. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **164**:1771-1781.
4. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. *United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep.* **51** (RR-15).
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
6. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano, and J. B. Mahony.** 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. *Mol. Cell. Probes.* **11**:243-249.
7. **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.
8. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrich, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen processing and concentration of *Chlamydia trachomatis* added can influence false-negative rates in the LCx assay but not in the Aptima Combo 2 Assay when testing for inhibitors. *J. Clin. Microbiol.* **41**:778-782.
9. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos, and T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Hologic AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. *J. Clin. Microbiol.* **36**:391-394.
10. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. *J. Clin. Microbiol.* **37**:386-390.
11. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. *Journal of Pediatrics* **95**:28-32.
12. **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.
13. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, and R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. *J. Clin. Microbiol.* **35**:2628-2633.
14. **Holmes, K. K., G. W. Counts, and H. N. Beatz.** 1971. Disseminated Gonococcal infection. *Ann. of Intern. Med.* **74**:979-993.
15. **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.
16. **Hook, E. W., III, 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, NY.
17. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh, and T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. *J. Clin. Microbiol.* **31**:1209-1212.
18. **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.
19. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors, and M. Chernesky.** 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. *J. Clin. Microbiol.* **36**:3122-3126.
20. **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.
21. **McCurdy, Brenda W.** 1997. *Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory*. February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
22. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
23. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
24. **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).
25. **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.

26. **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.
27. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
28. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
29. **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.
30. **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.
31. **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.
32. **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.
33. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. *J. Clin. Microbiol.* **3**:74-80.
34. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. *Infect. Immun.* **57**:1040-1049.



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



Service clients : +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Service technique : +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Pour obtenir des coordonnées supplémentaires, visitez le site www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, SB100, ThinPrep, Tigris, et TMA sont des marques commerciales et/ou des marques déposées d'Hologic, Inc. et/ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

eppendorf (stylisé) et REPEATER sont des marques de commerce de Eppendorf AG.

TECAN et FREEDOM EVO sont des marques de commerce de Tecan Group AG.

Toutes les autres marques commerciales qui peuvent apparaître dans ce notice sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.

© 2001–2016 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

502487FR Rev. 001

2016-03