

Aptima Combo 2™ Assay

Per uso diagnostico *in vitro*.

For U.S. Export only.

Informazioni generali	2
Uso previsto	2
Riepilogo e spiegazione del test	2
Principi della procedura	3
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	7
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	8
Interpretazione del test – CQ/Risultati relativi ai pazienti	24
Limiti	27
Test Aptima Combo 2 - Valori previsti	30
Test Aptima Combo 2 - Prestazioni cliniche	32
Aptima Combo 2 - Prestazioni analitiche	55
Concordanza dei campioni clinici sul sistema Tigris DTS	59
Prestazioni analitiche del sistema Tigris DTS	65
Prestazioni analitiche del Panther System	68
Bibliografia	75

Tigris™ DTS™

Sistema Tigris DTS	10
Reagenti e materiali forniti	10
Materiali richiesti ma disponibili separatamente	11
Materiali opzionali	12
Procedura di analisi con il sistema Tigris DTS	12
Note procedurali	15

Panther™

Panther System	17
Reagenti e materiali forniti	17
Materiali richiesti ma disponibili separatamente	18
Materiali opzionali	19
Procedura di analisi del Panther System	20
Note procedurali	23

Informazioni generali

Uso previsto

Il test Aptima Combo 2™ Assay (Test Aptima Combo 2 assay) è un test con sonda di acido nucleico per l'amplificazione del target che utilizza la cattura del target per il rilevamento qualitativo e la differenziazione *in vitro* dell'RNA ribosomiale derivante da *Chlamydia trachomatis* (CT) e/o *Neisseria gonorrhoeae* (GC) per essere di ausilio nella diagnosi di malattie clamidiali e/o gonococciche mediante il sistema Tigris™ DTS™ o il Panther™ system, come specificato. Il test può essere utilizzato per analizzare i seguenti campioni biologici derivanti da individui sintomatici e asintomatici: campioni di tamponi endocervicali, vaginali, uretrali maschili, nonché faringei e rettali maschili e femminili raccolti da medici; campioni vaginali raccolti dalla paziente, campioni di tamponi faringei e rettali maschili e femminili¹, nonché campioni di urina femminili e maschili. Inoltre, il test è destinato all'utilizzo con l'analisi di campioni ginecologici, di pazienti sia sintomatiche sia asintomatiche. Questi campioni cervicali, raccolti nelle fiale di soluzione PreservCyt™ possono essere analizzati prima o dopo il trattamento di campioni per Pap test. L'analisi di campioni trattati post-Pap si limita a campioni trattati esclusivamente con il sistema ThinPrep™ 2000 e il sistema ThinPrep™ 5000.

¹ I campioni di tamponi vaginali raccolti dalla paziente rappresentano un'opzione di screening per le pazienti quando non è altrimenti indicato un esame pelvico. Il kit di raccolta dei campioni di tamponi Aptima multitest non è concepito per l'uso domestico.

Riepilogo e spiegazione del test

Le infezioni da *Chlamydia trachomatis* (CT) e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) sono due delle più comuni infezioni trasmesse per via sessuale al mondo. Solo negli Stati Uniti, nel 2018, si stima che presso i Centri per il controllo delle malattie siano stati segnalati 1.758.668 casi di infezione da CT (539,9 su una popolazione di 100.000) e 583.405 casi di infezione da GC (179,1 su una popolazione di 100.000) (9).

Quelli della Clamidia sono batteri obbligati intracellulari gram-negativi e non mobili. La specie CT è composta da quindici serovar (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3) che possono causare malattie negli esseri umani (59). I serovar da D a K sono la causa principale delle infezioni genitali clamidiali negli uomini e nelle donne (44). La *C. trachomatis* può causare uretrite non gonococcica, epididimite, proctite, cervicite, salpingite acuta e malattia infiammatoria pelvica (MIP) (7, 24, 46, 47). Le infezioni da *C. trachomatis* sono spesso asintomatiche sia nell'uomo sia nella donna. I bambini nati da madri infette sono significativamente a più elevato rischio di congiuntivite da inclusioni e polmonite da Clamidia (1, 17, 45).

Tradizionalmente, sono stati usati svariati metodi per il rilevamento della CT nel laboratorio clinico, inclusi coltura cellulare, analisi diretta con anticorpo fluorescente e dosaggio immunoenzimatico. Metodologie più recenti per il rilevamento della CT includono dosaggi diretti del DNA con sonda e dosaggi del DNA con sonda per test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT). La coltura cellulare era un tempo considerata il "metodo chiave" per il rilevamento della CT. La coltura è piuttosto specifica, ma le pubblicazioni scientifiche hanno dimostrato che le tecnologie del DNA con sonda per NAAT hanno una più elevata sensibilità clinica rispetto alla coltura (6, 14, 26, 50). A causa della sua inferiore sensibilità clinica e delle prestazioni variabili fra i vari laboratori, la coltura è stata sostituita in molti laboratori da dosaggi diretti del DNA con sonda e NAAT.

N. gonorrhoeae è l'agente che causa la malattia gonococcica. Quelli della *N. gonorrhoeae* sono diplococchi gram-negativi non mobili. La maggior parte delle infezioni gonococciche sono infezioni senza complicazioni del tratto genitale inferiore e possono essere asintomatiche. Tuttavia, se restano non trattate nelle donne, le infezioni possono aggravarsi e causare MIP. La MIP può manifestarsi come endometrite, salpingite, peritonite pelvica e ascessi salpingo-ovarici. Negli uomini, la gonorrea può essere complicata da epididimiti. In rari casi può comportare infertilità (5). Una più piccola percentuale di persone colpite da infezioni gonococciche può sviluppare l'infezione gonococcica disseminata (DGI) (23, 32).

La diagnosi convenzionale delle infezioni GC richiede l'isolamento dell'organismo su mezzi selettivi o l'osservazione dei diplococchi in strisci a colorazione di Gram (25). I metodi di coltura possono avere una buona sensibilità clinica, ma sono molto dipendenti dall'adeguata manipolazione dei campioni. Una conservazione e un trasporto inadeguati del campione possono determinare la perdita della vitalità dell'organismo e dare risultati falsi negativi. Inoltre, una cattiva tecnica di campionamento, materiali di campionamento tossici e l'inibizione della crescita da parte di componenti delle secrezioni corporee possono anch'essi determinare risultati falsi negativi (11, 28). Metodi non basati su coltura per il rilevamento di GC includono le prove dirette del DNA con sonda e le NAAT.

Le NAAT di prima generazione per CT e GC presentano problemi tecnologici che hanno limitato le loro prestazioni. Tali problemi includono il trattamento complicato dei campioni e l'inibizione dei campioni che possono dare risultati falsi negativi (10, 15, 20, 30, 41, 51, 57, 58). Il test Aptima Combo 2 assay è una NAAT di seconda generazione che utilizza le tecnologie di cattura del target, amplificazione mediata da trascrizione (TMA) e test cinetico doppio (DKA) per semplificare il trattamento dei campioni, amplificare l'rRNA target e rilevare l'amplicone. Recenti studi che confrontano le prestazioni e l'inibizione dei campioni di vari sistemi di amplificazione hanno dimostrato i vantaggi delle tecnologie di cattura del target, TMA e DKA (12, 18). Il test Aptima Combo 2 assay rileva qualitativamente l'rRNA di CT e/o GC in campioni di tamponi endocervicali, vaginali e uretrali maschili, in campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt, nonché in campioni di tamponi faringei e rettali maschili e femminili raccolti da medici; in campioni vaginali raccolti dalla paziente, in campioni di tamponi faringei e rettali maschili e femminili, nonché in campioni di urina femminili e maschili derivanti da individui sintomatici e asintomatici.

Nel 2019 sono state individuate nuove varianti di *C. trachomatis*, contenenti mutazioni puntiformi che influiscono sul rilevamento da parte del test Aptima Combo 2 assay nella sua versione originale (22, 27, 42, 43, 55, 56). Ceppi varianti di clamidia, con mutazioni influenti sulla prestazione del test diagnostico sono stati precedentemente riportati (54) e rappresentano un prodotto naturale dell'evoluzione microbica. La versione aggiornata del test Aptima Combo 2 assay copre il rilevamento dei ceppi varianti di *C. trachomatis* emersi nel 2019.

Principi della procedura

Il test Aptima Combo 2 assay unisce le tecnologie di cattura del target, TMA e DKA. I campioni vengono raccolti e trasferiti nelle rispettive provette di trasporto del campione. Le soluzioni di trasporto in queste provette liberano i target di rRNA e li proteggono dalla degradazione durante la conservazione. Quando il test Aptima Combo 2 assay viene eseguito nel laboratorio, le molecole di rRNA target vengono isolate dai campioni mediante l'uso di oligomeri di cattura con un metodo chiamato cattura del target che si avvale di microparticelle magnetiche. Gli oligomeri di cattura contengono sequenze complementari a regioni specifiche delle molecole target, oltre a un filamento di residui di deossadenosina. Per ciascun target viene usato un oligomero di cattura separato. Durante il procedimento di ibridizzazione, le regioni specifiche della sequenza degli oligomeri di cattura si legano alle regioni specifiche delle molecole target. Il complesso oligomero di cattura:target viene quindi

catturato fuori dalla soluzione mediante riduzione della temperatura di reazione fino a temperatura ambiente. Questa riduzione della temperatura permette l'ibridizzazione fra la regione della deossadenosina sull'oligomero di cattura e le molecole di poli-deossitimidina unite con legame covalente alle particelle magnetiche. Le microparticelle, incluse le molecole target catturate a esse legate, vengono spinte sul lato del contenitore di reazione usando dei magneti e il supernatante viene aspirato. Le particelle vengono sottoposte a lavaggio per rimuovere la residua matrice del campione che potrebbe contenere inibitori della reazione di amplificazione. Una volta completati i procedimenti di cattura del target, i campioni sono pronti per l'amplificazione.

I test di amplificazione del target si basano sulla capacità dei primer oligonucleotidici complementari di eseguire l'ibridazione specifica e di permettere l'amplificazione enzimatica dei filamenti di acidi nucleici target. Il test Aptima Combo 2 assay replica una regione specifica dell'rRNA 23S dalla CT e una regione specifica dell'rRNA 16S dalla GC attraverso intermedi del DNA. Per ciascuna molecola target viene usata una serie univoca di primer. Il rilevamento delle sequenze di prodotto di amplificazione dell'rRNA (amplicone) viene ottenuto usando l'ibridizzazione dell'acido nucleico. Le sonde di DNA chemiluminescente con filamento unico, che sono complementari a una regione di ciascun amplicone target, vengono marcate con diverse molecole di estere di acridinio. Le sonde di DNA marcate si combinano con l'amplicone per formare ibridi RNA:DNA stabili. Il reagente di selezione differenzia la sonda ibridizzata da quella non ibridizzata, eliminando la generazione di segnale dalla seconda. Durante il procedimento di rilevamento, la luce emessa dagli ibridi marcati RNA:DNA viene misurata come segnali fotonici in un luminometro, che vengono riportati come unità di luce relativa (RLU). Nel DKA, le differenze nei profili cinetici delle sonde marcate CT e GC permettono la differenziazione del segnale; i profili cinetici sono derivati dalle misurazioni delle emissioni fotoniche durante il tempo di lettura del rilevamento. La reazione di rilevamento chemiluminescente per il segnale CT presenta una cinetica molto rapida e ha il tipo di cinetica con segnale "flash". La reazione di rilevamento chemiluminescente per il segnale GC è relativamente più lenta e presenta il tipo di cinetica con segnale "glow". I risultati del test vengono determinati mediante cutoff basato sulle RLU totali e sul tipo di curva cinetica.

Avvertenze e precauzioni

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

Pertinenti al laboratorio

- E. Il test non è stato valutato in popolazioni di pazienti con una bassa prevalenza di malattia CT; di conseguenza, le prestazioni in ambienti a bassa prevalenza non sono state determinate.
- F. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.

- G. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non mangiare, bere né fumare nelle aree di lavoro designate. Quando si maneggiano campioni e reagenti del kit, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti del kit.
- H. **Avvertenza: sostanze irritanti e corrosive:** evitare il contatto dell'Auto Detect 1 e dell'Auto Detect 2 con la pelle, gli occhi e le mucose. Se questi liquidi vengono a contatto con pelle o occhi, risciacquare con acqua. Se si verificano versamenti accidentali di questi liquidi, diluirli con acqua prima di asciugarli con un panno.
- I. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5 – 3,5% (0,35 M – 0,5 M).

Pertinenti ai campioni

- J. Il test è stato analizzato tramite l'uso di campioni di tamponi endocervicali, vaginali e uretrali maschili, campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt, nonché campioni di tamponi faringei e rettali maschili e femminili raccolti da medici; campioni vaginali raccolti dalla paziente, campioni di tamponi faringei e rettali maschili e femminili, nonché in campioni di urina femminili e maschili. Le prestazioni con campioni diversi da quelli specificati nella sezione *Raccolta e conservazione dei campioni biologici* non sono state valutate.
I singoli laboratori possono convalidare altri dispositivi di raccolta (33, 36).
I campioni ginecologici raccolti per la preparazione usando il sistema ThinPrep 2000 o il sistema ThinPrep 5000 vanno raccolti usando i dispositivi di raccolta a forma di scopa o con combinazione spazzola/spatola di plastica endocervicale.
- K. Le date di scadenza indicate nei kit per la raccolta si riferiscono al centro di raccolta e non alla struttura di analisi. I campioni raccolti in qualsiasi momento prima della data di scadenza indicata nel kit di raccolta, e che siano trasportati e conservati seguendo le istruzioni del foglietto illustrativo della confezione, sono validi per l'analisi anche se la data di scadenza sulla provetta di raccolta è passata.
- L. La soluzione PreservCyt è stata convalidata come un mezzo alternativo per l'analisi con il test Aptima Combo 2 assay. I campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt trattati usando il processore ThinPrep 3000 o altri strumenti non sono stati valutati per l'analisi di rilevamento di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* usando il test Aptima Combo 2 assay.
- M. Dopo l'aggiunta dell'urina nell'apposita provetta di trasporto, il livello del liquido deve rientrare fra le due righe nere indicatrici marcate sull'etichetta della provetta. In caso contrario, il campione va rifiutato.
- N. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- O. I campioni potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio. L'esecuzione di questa procedura diagnostica va permessa solo a personale adeguatamente addestrato nella manipolazione di materiali infettivi.

- P. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.
- Q. Se il laboratorio riceve una provetta di trasporto dei campioni di tampone che non contiene alcun tampone o contiene due tamponi, un tampone di pulizia o un tampone non fornito da Hologic, il campione va rifiutato. Prima di rifiutare una provetta di trasporto del tampone che non contiene tampone, verificare che non si tratti di una provetta di trasporto del campione Aptima™, in quanto questa provetta di trasporto del campione non contiene un tampone.
- R. Per i campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt, raccogliere il campione seguendo le istruzioni del fabbricante. Aliquote rimosse successivamente dalla fiala PreservCyt per l'analisi mediante il test Aptima Combo 2 assay vanno trattate usando solo il kit di trasferimento dei campioni Aptima.
- S. In certe condizioni, i tappi delle provette di trasporto Aptima possono liberare liquido quando vengono forati. Per prevenire tale occorrenza, seguire le istruzioni della *Procedura di analisi pertinente*.

Pertinenti al test

- T. Le prestazioni del test Aptima Combo 2 assay non sono state valutate nelle donne di età inferiore ai 14 anni.
- U. Non usare questo kit dopo la data di scadenza.
- V. **Non scambiare, mescolare o combinare reagenti per test** provenienti da kit con numeri di lotto diversi. I controlli e i fluidi per test Aptima possono avere numeri di lotto diversi.

	<p>Aptima Oil Reagent <i>Polydimethylsiloxane 100%</i></p> <p>Avvertenza H315 - Provoca irritazione cutanea H319 - Provoca grave irritazione oculare</p>
	<p>Selection Reagent Boric Acid 1-5% Sodium Hydroxide <1%</p> <p>Avvertenza H315 - Provoca irritazione cutanea H319 - Provoca grave irritazione oculare</p>
	<p>Target Capture Reagent <i>EDTA 1-5%</i></p> <p>H411 - Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambient P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>

Nota: l'avvertenza di pericolo riflette le classificazioni delle schede di sicurezza UE (SDS). Per le informazioni sulle avvertenze di pericolo specifiche della propria regione, fare riferimento alle SDS specifiche per regione nella libreria delle schede di sicurezza, all'indirizzo www.hologicds.com.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

- A. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C (refrigerati):
- Reagente di amplificazione Aptima Combo 2
 - Reagente enzimatico Aptima Combo 2
 - Reagente sonda Aptima Combo 2
 - Reagente B di cattura del target Aptima Combo 2
 - Controllo positivo, CT/Controllo negativo, GC APTIMA
 - Controllo positivo, GC/Controllo negativo, CT APTIMA
- B. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperature comprese tra 2 °C e 30 °C:
- Soluzione di ricostituzione di amplificazione Aptima Combo 2
 - Soluzione di ricostituzione enzimatica Aptima Combo 2
 - Soluzione di ricostituzione della sonda Aptima Combo 2
 - Reagente di selezione Aptima Combo 2
- C. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperature comprese tra 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):
- Reagente di cattura del target
 - Soluzione di lavaggio Aptima
 - Tampone per liquido di disattivazione Aptima
 - Reagente oleoso Aptima
- D. Il reagente di cattura del target di lavoro (wTCR) è stabile per 30 giorni se conservato a 15 °C – 30 °C. Non refrigerare.
- E. Dopo la ricostituzione, il reagente enzimatico, il reagente di amplificazione e il reagente sonda sono stabili per 30 giorni quando vengono conservati a temperature comprese tra 2 °C – 8 °C.
- F. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e il reagente wTCR dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master, a seconda di quale data cada per prima.
- G. I controlli sono stabili fino alla data indicata sulle fiale.
- H. I reagenti conservati sul sistema Tigris DTS hanno una stabilità a bordo di 48 ore.
- I. I reagenti conservati sul Panther system sono stabili per 72 ore quando sono conservati a bordo dello strumento.
- J. Il reagente sonda e il reagente sonda ricostituito sono fotosensibili. Conservare i reagenti al riparo dalla luce. La stabilità specificata del reagente ricostituito si basa su un'esposizione di 12 ore del reagente sonda ricostituito a due lampade fluorescenti da 60 W, a una distanza di 43 cm (17 pollici) e a una temperatura inferiore a 30 °C. L'esposizione alla luce del reagente sonda ricostituito deve essere limitata in maniera conforme.

K. Dopo che sono state riscaldate fino alla temperatura ambiente, alcune provette dei controlli potrebbero apparire torbide o contenere precipitati. Torbidità o precipitazione associate ai controlli non hanno impatto sulle prestazioni dei controlli stessi. I controlli possono essere usati sia quando sono trasparenti sia quando sono torbidi o contengono precipitato. Se si desiderano controlli trasparenti, la solubilizzazione può essere velocizzata incubandoli alla fascia superiore dell'intervallo di temperature ambiente (da 15 °C a 30 °C).

L. **Non congelare i reagenti.**

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Il test Aptima Combo 2 assay è concepito per rilevare la presenza di CT e GC nei seguenti campioni: campioni di tamponi endocervicali, vaginali e uretrali maschili, campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt, nonché campioni di tamponi faringei e rettali maschili e femminili raccolti da medici; campioni vaginali raccolti dalla paziente, campioni di tamponi faringei e rettali maschili e femminili, nonché campioni di urina femminili e maschili. Le prestazioni con campioni diversi da quelli raccolti con i seguenti kit di raccolta dei campioni non sono state valutate:

- Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tamponi uretrali maschili ed endocervicali
- Kit di raccolta di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili
- Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima
- Kit di trasferimento dei campioni Aptima (per l'uso con i campioni ginecologici raccolti in soluzione PreservCyt)

A. Istruzioni per la raccolta:

per le istruzioni per la raccolta, consultare il foglietto illustrativo dell'appropriato kit di raccolta dei campioni.

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

1. Campioni di tampone:

a. Dopo la raccolta, trasportare e conservare il tampone, fino al momento dell'analisi, nella provetta di trasporto dei campioni di tampone, a temperature comprese tra 2 °C e 30 °C. I campioni vanno analizzati con il test Aptima Combo 2 assay entro 60 giorni dalla raccolta. Se occorre conservarli più a lungo, congelarli a temperature comprese tra -20 °C e -70 °C per un massimo di 12 mesi dalla raccolta (consultare *Studi sulla stabilità dei campioni*).

2. Campioni di urina:

a. I campioni di urina contenuti ancora nel contenitore di raccolta primaria devono essere trasportati presso il laboratorio a 2 °C – 30 °C. Trasferire il campione di urina nella provetta di trasporto del campione di urina Aptima entro 24 ore dalla raccolta. Conservare a temperature comprese tra 2 °C e 30 °C e analizzare entro 30 giorni dalla raccolta.

b. Dopo la raccolta, trasportare i campioni di urina trattati nella provetta di trasporto del campione di urina Aptima a temperature comprese tra 2 °C e 30 °C e conservarli a temperature comprese tra 2 °C e 30 °C fino al momento dell'analisi. I campioni di urina trattati vanno dosati con il test Aptima Combo 2 assay entro 30 giorni dalla raccolta. Se occorre conservarli più a lungo, congelare a temperature comprese tra -20 °C e -70 °C per un massimo di 12 mesi dopo la raccolta (consultare *Studi sulla stabilità dei campioni*).

3. Campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt:
 - a. I campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt destinati all'analisi CT e/o GC devono essere trattati per la citologia e/o trasferiti in una provetta di trasporto del campione Aptima entro 30 giorni dalla raccolta a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C (consultare *Studi sulla stabilità dei campioni*).
 - b. Se verrà impiegata la procedura di rimozione delle aliquote ThinPrep, consultare l'*Appendice del ThinPrep 2000, ThinPrep 3000 o ThinPrep 5000 Processor Operators Manual (Manuale per l'operatore del processore ThinPrep 2000, ThinPrep 3000 o ThinPrep 5000)* per istruzioni in merito. Trasferire 1 ml dell'aliquota rimossa nella provetta di trasporto del campione Aptima attenendosi alle istruzioni del foglietto illustrativo del kit di trasporto del campione Aptima.
 - c. Se si analizza il campione dopo il trattamento utilizzando il processore ThinPrep 2000, trattare il campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt in conformità al *ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual (Manuale per l'operatore del processore ThinPrep 2000)* e il foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima. Se si analizza il campione dopo l'utilizzo del processore ThinPrep 5000, trattare il campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt in conformità al *ThinPrep 5000 Processor Operator's Manual (Manuale per l'operatore del processore ThinPrep 5000)* e il foglietto illustrativo del kit di trasporto dei campioni Aptima. Trasferire 1 ml del liquido restante nella fiala di soluzione PreservCyt in una provetta di trasporto del campione Aptima attenendosi alle istruzioni del foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima.
 - d. Una volta che il campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt è stato trasferito nella provetta di trasporto del campione Aptima, il campione deve essere analizzato nel test Aptima Combo 2 assay entro 30 giorni, se conservato a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C oppure entro 14 giorni se conservato a temperature comprese tra 15 °C e 30 °C. Se occorre conservarlo più a lungo, congelarlo a temperature comprese fra -20 °C e -70 °C per un massimo di 12 mesi dopo il trasferimento (consultare *Studi sulla stabilità dei campioni*).
- C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi:
 1. I campioni analizzati devono essere conservati su una rastrelliera, in posizione verticale.
 2. Le provette di trasporto dei campioni vanno coperte con una nuova barriera pulita di pellicola di plastica o di alluminio.
 3. Se i campioni testati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi penetrabili e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili sulle provette di trasporto dei campioni. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate. Prima di rimuovere i tappi di campioni precedentemente analizzati e reincappucciati, occorre sottoporre a centrifuga le provette di trasporto dei campioni per 5 minuti a una forza centrifuga relativa (RCF) di 420 per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta. **Evitare schizzi e contaminazione crociata.**

Nota: i campioni devono essere spediti in conformità alle normative sul trasporto nazionali e internazionali applicabili.

Sistema Tigris DTS

Di seguito sono elencati i reagenti del test Aptima Combo 2 assay per CT e GC per il sistema Tigris DTS. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo di identificazione.

Reagenti e materiali forniti

Kit per test Aptima Combo 2 Assay, 250 test (2 confezioni e 1 kit controlli) (N. di cat. PRD-05572 e PRD-05572B)

Confezione refrigerata Aptima Combo 2 (confezione 1 di 2)
(alla consegna, conservare a 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
A	Reagente di amplificazione Aptima Combo 2 <i>Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente strutturante.</i>	1 fiala
E	Reagente enzimatico Aptima Combo 2 <i>Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di reagente strutturante.</i>	1 fiala
P	Reagente sonda Aptima Combo 2 <i>Sonde di DNA chemiluminescente non infettivo liofilizzate in soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 fiala
TCR-B	Reagente B di cattura del target Aptima Combo 2 <i>Acidi nucleici non infettivi in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 0,61 ml

Confezione a temperatura ambiente Aptima Combo 2 (confezione 2 di 2)
(alla consegna, conservare a 15 °C – 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
AR	Soluzione di ricostituzione di amplificazione Aptima Combo 2 <i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>	1 x 27,7 ml
ER	Soluzione di ricostituzione enzimatica Aptima Combo 2 <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 x 11,1 ml
PR	Soluzione di ricostituzione della sonda Aptima Combo 2 <i>Soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 35,4 ml
S	Reagente di selezione Aptima Combo 2 <i>600 mM di soluzione tampone borato contenente tensioattivo.</i>	1 x 108 ml
TCR	Reagente di cattura del target Aptima Combo 2 <i>Soluzione salina tamponata contenente fase solida e oligomeri di cattura.</i>	1 x 54 ml
	Collari per ricostituzione	3
	Scheda del codice a barre del lotto master	1 scheda

Kit controlli Aptima
(alla consegna, conservare a 2 °C – 8 °C)

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

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

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

	<u>N. di cat.</u>
Sistema Tigris DTS	105118
Kit di liquidi per test Aptima <i>(soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima)</i>	302382
Kit Auto Detect Aptima	301048
Kit conservante del liquido del sistema Aptima	302380
Puntali, 1000 µl conduttivi, rilevatori di liquido	10612513 (Tecan)
Kit procedurali del sistema Tigris DTS	301191
<i>Unità multiprovetta (MTU)</i>	<i>104772-02</i>
<i>Kit della sacca dei puntali da smaltire MTU</i>	<i>900907</i>
<i>Deflettori di rifiuti delle MTU</i>	<i>900931</i>
<i>Coperchi di rifiuti delle MTU</i>	<i>105523</i>
Kit di trasferimento dei campioni Aptima <i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>	301154C
Kit di trasferimento dei campioni Aptima — Stampabile <i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>	PRD-05110
Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima	PRD-03546
Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tamponi uretrali maschili ed endocervicali	301041
Kit di raccolta dei campioni di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili	301040
Provette di trasporto del campione di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili	105575

	<u>N. di cat.</u>
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 7% (0,7 M – 1,0 M)	—
Acqua per il sistema Tigris DTS <i>consultare il Tigris DTS System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del sistema Tigris DTS) per le specifiche</i>	—
Guanti monouso	—
Standard di calibrazione SysCheck	301078
Tappi penetrabili Aptima	105668
Tappi non penetrabili di ricambio	103036A
Tappi di riserva per i kit da 250 test	—
<i>Soluzioni di ricostituzione dei reagenti sonda e di amplificazione</i>	<i>CL0041 (100 tappi)</i>
<i>Soluzione di ricostituzione di reagenti enzimatici</i>	<i>501616 (100 tappi)</i>
<i>Reagente di selezione e TCR</i>	<i>CL0040 (100 tappi)</i>

Materiali opzionali

	<u>N. di cat.</u>
Kit controlli Aptima	301110
Potenziatore di candeggina per pulizia Hologic <i>per la pulizia ordinaria di superfici e attrezzature</i>	302101

Procedura di analisi con il sistema Tigris DTS

Nota: consultare il *Tigris DTS System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del sistema DTS Tigris)* per ulteriori informazioni procedurali su questo sistema.

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro su cui verranno preparati i reagenti. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Lasciare la candeggina a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati i reagenti con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.

B. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

Nota: la ricostituzione dei reagenti deve essere eseguita prima di iniziare qualsiasi lavoro sul sistema Tigris DTS.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
 - a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di fissare il collare di ricostituzione, assicurarsi che la soluzione di ricostituzione e il reagente liofilizzato presentino etichette di colore uguale.

- b. Controllare i numeri di lotto sulla scheda del codice a barre del lotto master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
- c. Aprire la fiala del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala (Figura 1, Procedimento 1).
- d. Aprire il flacone della soluzione di ricostituzione corrispondente e appoggiare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
- e. Tenendo il flacone di soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 1, Procedimento 2).
- f. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati. Lasciare scendere la soluzione dal flacone nella fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 3).
- g. Agitare ruotando delicatamente la soluzione nella fiala per miscelarla. Evitare la formazione di schiuma mentre si agita la fiala con movimento rotatorio (Figura 1, Procedimento 4).
- h. Attendere che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere nuovamente i due flaconi assemblati, inclinandoli con un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, Procedimento 5). Lasciare che tutto il liquido ritorni nel flacone di plastica.
- i. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 6).
- j. Rimettere il tappo sul flacone di plastica. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, Procedimento 7).
- k. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Procedimento 8).

Opzione: È consentita la miscelazione aggiuntiva dei reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, per mezzo di un agitatore basculante per provette. I reagenti possono essere miscelati posizionando il flacone, a cui sarà stato rimesso il tappo, su un agitatore basculante per provette impostato su 20 RPM (o equivalente) per un tempo minimo di 5 minuti.

Avvertenza: Evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento del livello di liquido nel sistema Tigris DTS.

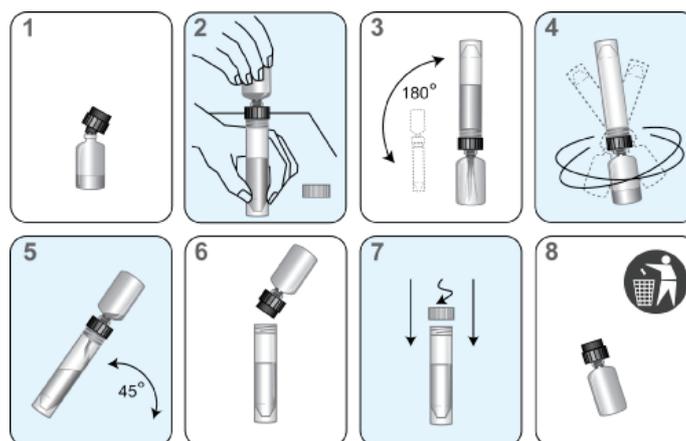


Figura 1. Processo di ricostituzione con il sistema Tigris DTS o il Panther System

2. Preparazione del reagente di cattura del target di lavoro (wTCR)
 - a. Abbinare i flaconi appropriati di TCR e TCR-B.
 - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sulla scheda dei codici a barre del lotto master per assicurarsi di abbinare i reagenti ai kit appropriati.
 - c. Aprire il flacone di TCR e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Aprire il flacone di TCR-B e versarne l'intero contenuto nel flacone di TCR. È normale che nel flacone di TCR-B resti una piccola quantità di liquido.
 - e. Chiudere con il tappo il flacone di TCR e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo procedimento.
 - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
 - g. Smaltire il flacone e il tappo del TCR-B.
3. Preparazione del reagente di selezione
 - a. Controllare il numero di lotto sul flacone di reagente per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sulla scheda dei codici a barre del lotto master.
 - b. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

Nota: *miscelare accuratamente tutti i reagenti capovolgendoli con attenzione prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.*

- C. Preparazione di reagenti precedentemente ricostituiti
 1. I reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C) prima di iniziare il test.
 2. Se il reagente sonda ricostituito contiene precipitato che non rientra in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare il flacone chiuso con il tappo a una temperatura che non superi i 62 °C per un periodo compreso tra 1 e 2 minuti. Dopo questo procedimento di riscaldamento, il reagente sonda può essere usato anche se resta del precipitato residuo. Prima di caricarlo sul sistema, miscelare il reagente sonda capovolgendolo, facendo attenzione a non produrre schiuma.
 3. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.
 4. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il sistema Tigris DTS riconosce e rifiuta i flaconi riempiti al massimo.
- D. Manipolazione dei campioni
 1. Prima dell'analisi, lasciare che i controlli e i campioni raggiungano la temperatura ambiente.
 2. **Non miscelare i campioni sul vortex.**
 3. Controllare visivamente che ciascuna provetta del campione soddisfi almeno uno dei seguenti criteri:
 - a. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima blu in una provetta di trasporto dei campioni di tampone unisex.
 - b. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima rosa in una provetta di trasporto dei campioni di tampone vaginali o multitest.
 - c. Un volume finale di urina compreso tra le linee nere di riempimento di una provetta di trasporto dei campioni di urina.

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

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

Nota: da ciascuna provetta del campione possono essere analizzate fino a 3 aliquote separate. I tentativi di pipettare più di 3 aliquote dalla provetta del campione possono causare errori di volume insufficiente.

E. Preparazione del sistema

Impostare il sistema e la lista di lavoro in base alle istruzioni contenute nel *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del sistema DTS Tigris) e nelle *Note procedurali*.

Note procedurali

A. Controlli

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

B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende un intervallo di temperatura compreso tra 15 °C e 30 °C.

C. Polvere dei guanti

Come in qualsiasi sistema di reagenti, la polvere eccessiva in alcuni guanti può causare la contaminazione delle provette aperte. Si consigliano guanti privi di polvere.

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

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

Per monitorare la contaminazione del laboratorio, può essere effettuata la seguente procedura utilizzando il Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tamponi endocervicali e uretrali maschili:

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

Se i risultati sono CT o GC positivi o dubbi, consultare *Interpretazione del test – CQ/ Risultati relativi ai pazienti*. Per ulteriori informazioni sul monitoraggio della contaminazione, specifiche per il sistema Tigris DTS, consultare il *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del sistema Tigris DTS).

Panther System

Di seguito sono elencati i reagenti del test Aptima Combo 2 assay per CT e GC per il Panther system. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo di identificazione.

Reagenti e materiali forniti**Kit per test Aptima Combo 2 Assay**

100 test (2 confezioni del test e 1 kit controlli) (N. di cat. PRD-05576)

250 test (2 confezioni del test e 1 kit controlli) (N. di cat. PRD-05571)

**Confezione refrigerata Aptima Combo 2 (confezione 1 di 2)
(alla consegna, conservare a 2 °C – 8 °C)**

Simbolo	Componente	Quantità Kit da 250 test	Quantità Kit da 100 test
A	Reagente di amplificazione Aptima Combo 2 <i>Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente strutturante.</i>	1 fiala	1 fiala
E	Reagente enzimatico Aptima Combo 2 <i>Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di reagente strutturante.</i>	1 fiala	1 fiala
P	Reagente sonda Aptima Combo 2 <i>Sonde di DNA chemiluminescente non infettivo liofilizzate in soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 fiala	1 fiala
TCR-B	Reagente B di cattura del target Aptima Combo <i>Acidi nucleici non infettivi in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 0,61 ml	1 x 0,30 ml

**Confezione a temperatura ambiente Aptima Combo 2 (confezione 2 di 2)
(alla consegna, conservare a 15 °C – 30 °C)**

Simbolo	Componente	Quantità Kit da 250 test	Quantità Kit da 100 test
AR	Soluzione di ricostituzione di amplificazione Aptima Combo 2 <i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>	1 x 27,7 ml	1 x 11,9 ml
ER	Soluzione di ricostituzione enzimatica Aptima Combo 2 <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 x 11,1 ml	1 x 6,3 ml
PR	Soluzione di ricostituzione della sonda Aptima Combo 2 <i>Soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 35,4 ml	1 x 15,2 ml

Confezione a temperatura ambiente Aptima Combo 2 (confezione 2 di 2)
(alla consegna, conservare a 15 °C – 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità Kit da 250 test	Quantità Kit da 100 test
S	Reagente di selezione Aptima Combo 2 <i>600 mM di soluzione tampone borato contenente tensioattivo.</i>	1 x 108 ml	1 x 43,0 ml
TCR	Reagente di cattura del target Aptima Combo 2 <i>Soluzione salina tamponata contenente fase solida e oligomeri di cattura.</i>	1 x 54 ml	1 x 26,0 ml
	Collari per ricostituzione	3	3
	Scheda del codice a barre del lotto master	1 scheda	1 scheda

Kit controlli Aptima

(alla consegna, conservare a 2 °C – 8 °C)

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

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

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

	<u>N. di cat.</u>
Panther System	303095
Kit di liquidi per test Aptima <i>(soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima)</i>	303014 (1000 test)
Kit Auto Detect Aptima	303013 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore per rifiuti Panther	504405

o kit procedurale Panther	303096 (5000 test)
<i>contiene unità multiprovette (MTU), sacchetti di rifiuti, coperchi del contenitore di scarico, liquidi di test e Auto Detect</i>	
Puntali, 1000 µl conduttivi, rilevatori di liquido	10612513 (Tecan)
Kit di trasferimento dei campioni Aptima	301154C
<i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>	
Kit di trasferimento dei campioni Aptima —Stampabile	PRD-05110
<i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt</i>	
Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima	PRD-03546
Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tamponi uretrali maschili ed endocervicali	301041
Kit di raccolta dei campioni di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili	301040
Provette di trasporto del campione di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili	105575
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 7% (0,7 M – 1,0 M)	—
Guanti monouso	—
Standard di calibrazione SysCheck	301078
Tappi penetrabili Aptima	105668
Tappi non penetrabili di ricambio	103036A
Tappi di riserva per i kit da 250 test	—
<i>Soluzioni di ricostituzione dei reagenti sonda e di amplificazione</i>	<i>CL0041 (100 tappi)</i>
<i>Soluzione di ricostituzione di reagenti enzimatici</i>	<i>501616 (100 tappi)</i>
<i>Reagente di selezione e TCR</i>	<i>CL0040 (100 tappi)</i>
Tappi di riserva per i kit da 100 test	—
<i>Soluzioni di ricostituzione dei reagenti sonda, enzimatici e di amplificazione</i>	<i>CL0041 (100 tappi)</i>
<i>Reagente di selezione e TCR</i>	<i>501604 (100 tappi)</i>

Materiali opzionali

	<u>N. di cat.</u>
Kit controlli Aptima	301110
Potenziatore di candeggina per pulizia Hologic <i>per la pulizia ordinaria di superfici e attrezzature</i>	302101

Procedura di analisi del Panther System

Nota: per ulteriori informazioni sulla procedura del Panther System, consultare il Panther system Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther system).

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro su cui verranno preparati i reagenti. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Lasciare la candeggina a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati i reagenti con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.

B. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

Nota: eseguire la ricostituzione dei reagenti prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Panther system.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
 - a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di collegare il collare di ricostituzione, assicurarsi che le etichette della soluzione di ricostituzione e del reagente siano dello stesso colore.
 - b. Controllare i numeri di lotto sulla scheda del codice a barre del lotto master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
 - c. Aprire la fiala del reagente liofilizzato e inserire con fermezza l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala (Figura 2, Procedimento 1).
 - d. Aprire il flacone della soluzione di ricostituzione corrispondente e appoggiare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - e. Tenendo il flacone di soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 2, Procedimento 2).
 - f. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati. Lasciare scendere la soluzione dal flacone nella fiala di vetro (Figura 2, Procedimento 3).
 - g. Agitare roteando con attenzione la soluzione nel flacone per miscelarla. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 2, Procedimento 4).
 - h. Attendere che il reagente liofilizzato passi in soluzione, quindi capovolgere nuovamente i due flaconi assemblati, inclinandoli con un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 2, Procedimento 5). Lasciare che tutto il liquido ritorni nel flacone di plastica.
 - i. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 2, Procedimento 6).
 - j. Rimettere il tappo sul flacone di plastica. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 2, Procedimento 7).
 - k. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 2, Procedimento 8).

Opzione: È consentita la miscelazione aggiuntiva dei reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, per mezzo di un agitatore basculante per provette. I reagenti possono essere miscelati posizionando il flacone, a cui sarà stato rimesso il tappo, su un agitatore basculante per provette impostato su 20 RPM (o equivalente) per un tempo minimo di 5 minuti.

Avvertenza: evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento del livello di liquido nel Panther system.

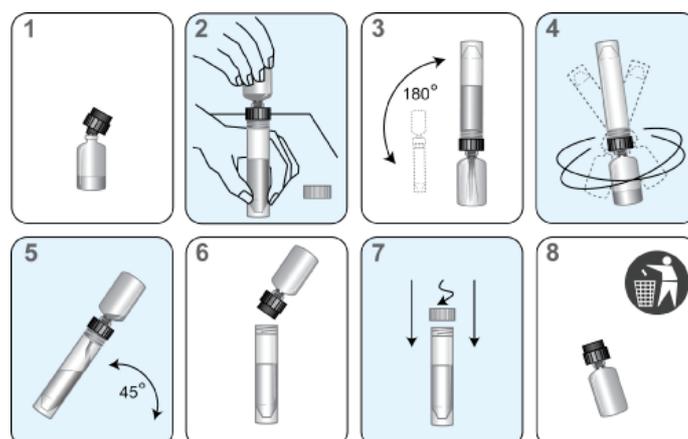


Figura 2. Processo di ricostituzione con il sistema Tigris DTS o il Panther System

2. Preparazione del reagente di cattura del target di lavoro (wTCR)
 - a. Abbinare i flaconi appropriati di TCR e TCR-B.
 - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sulla scheda dei codici a barre del lotto master per assicurarsi di abbinare i reagenti ai kit appropriati.
 - c. Aprire il flacone di TCR e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Aprire il flacone di TCR-B e versarne l'intero contenuto nel flacone di TCR. È normale che nel flacone di TCR-B resti una piccola quantità di liquido.
 - e. Chiudere con il tappo il flacone di TCR e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo procedimento.
 - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
 - g. Smaltire il flacone e il tappo del TCR-B.
3. Preparazione del reagente di selezione
 - a. Controllare il numero di lotto sul flacone di reagente per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sulla scheda dei codici a barre del lotto master.
 - b. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

Nota: miscelare accuratamente tutti i reagenti capovolgendoli con attenzione prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.

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

D. Manipolazione dei campioni

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

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

Nota: da ciascuna provetta del campione possono essere analizzate fino a 4 aliquote separate. I tentativi di pipettare più di 4 aliquote dalla provetta del campione possono causare errori di volume insufficiente.

E. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni fornite nel *Panther System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther System) e in *Note procedurali*. Assicurarsi di utilizzare rastrelliere reagenti e adattatori TCR di dimensioni appropriate.
2. Caricare i campioni.

Note procedurali

A. Controlli

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

B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende un intervallo di temperatura compreso tra 15 °C e 30 °C.

C. Polvere dei guanti

Come in qualsiasi sistema di reagenti, la polvere eccessiva in alcuni guanti può causare la contaminazione delle provette aperte. Si consigliano guanti privi di polvere.

D. Protocollo del laboratorio per il monitoraggio della contaminazione per il Panther system

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

Per monitorare la contaminazione del laboratorio, può essere effettuata la seguente procedura utilizzando il Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tamponi endocervicali e uretrali maschili:

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

Se i risultati sono CT o GC positivi o dubbi, consultare *Interpretazione del test – CQ/ Risultati relativi ai pazienti*. Per ulteriori informazioni sul monitoraggio della contaminazione specifica del Panther system, contattare l'assistenza tecnica Hologic.

Interpretazione del test – CQ/Risultati relativi ai pazienti

A. Interpretazione del test

I risultati dell'analisi del test vengono interpretati automaticamente dal software del test Aptima assay, utilizzando il protocollo Aptima Combo 2, e presentati come risultati delle analisi individuali per CT e GC. Un risultato del test può essere negativo, dubbio, positivo o non valido, secondo quanto determinato in base al tipo cinetico e alle RLU totali rilevati nel procedimento di rilevamento (vedere sotto). Un risultato del test può essere non valido a causa di un parametro che non rientra negli intervalli normali attesi. Risultati iniziali del test dubbi e non validi vanno ripetuti.

Tipo cinetico	RLU totali (x1000) per avere un risultato CT		
	Negativo	Dubbio	Positivo
Solo CT	Da 1 a < 25	Da 25 a < 100	Da 100 a < 4500
CT e GC	Da 1 a < 85	Da 85 a < 250	Da 250 a < 4500
CT indeterminata	Da 1 a < 85	Da 85 a < 4500	N/P

Tipo cinetico	RLU totali (x1000) per avere un risultato GC		
	Negativo	Dubbio	Positivo
Solo GC	Da 1 a < 60	Da 60 a < 150	Da 150 a < 4500
GC e CT	Da 1 a < 85	Da 85 a < 250	Da 250 a < 4500
GC indeterminata	Da 1 a < 85	Da 85 a < 4500	N/P

B. Risultati di controllo della qualità e accettabilità

Il controllo positivo, CT/controllo negativo, GC e il controllo positivo, GC/controllo negativo, CT agiscono come controlli per i procedimenti di cattura del target, amplificazione e rilevamento del test. Secondo le linee guida o i requisiti dei regolamenti locali, statali e/o federali o delle organizzazioni certificanti, possono essere inclusi ulteriori controlli per la lisi cellulare e la stabilizzazione dell'RNA. Il controllo positivo, CT/controllo negativo, GC serve come controllo negativo per i risultati del test per GC. Il controllo positivo, GC/controllo negativo, CT serve come controllo negativo per i risultati del test per CT. Se si desidera, si può aggiungere un controllo negativo doppio fornito dall'utente per monitorare il background del test. La corretta preparazione dei campioni viene confermata visivamente dalla presenza di un unico tampone di raccolta Aptima in una provetta di trasporto dei campioni di tampone, da un volume finale di urina compreso tra le righe nere di riempimento di una provetta di trasporto del campione di urina o dall'assenza di un tampone in una provetta di trasferimento del campione Aptima per campioni per Pap test raccolti in liquido Soluzione PreservCyt.

I controlli positivi devono produrre i seguenti risultati del test:

Controllo	RLU totali (x1000)	Risultato CT	Risultato GC
Controllo positivo, CT/ Controllo negativo, GC	≥ 100 e < 3000	Positivo	Negativo
Controllo positivo, GC/ Controllo negativo, CT	≥ 150 e < 3000	Negativo	Positivo

1. Il software del test Aptima assay valuta automaticamente i controlli rispetto ai criteri indicati sopra e referta lo stato della sessione come PASS (superata) se i criteri di controllo della sessione sono soddisfatti, e come FAIL (non riuscita) se i criteri di controllo della seduta non vengono soddisfatti.
2. Se lo stato della sessione è FAIL, tutti i risultati dell'analisi nella stessa sessione sono non validi e non vanno refertati.
3. Ciascun laboratorio deve applicare le appropriate procedure di controllo per soddisfare i requisiti dei regolamenti CLIA (sezione 493.1256).
4. Un parametro del sistema Tigris DTS permette a ciascun centro di specificare una frequenza di uso di "gruppo di controllo", mediante il quale delle ulteriori serie di controlli possono essere disposte a intervalli definiti all'interno della lista di lavoro. Se questo parametro viene specificato, il sistema Tigris DTS richiede che una serie di controlli sia disposta dopo il numero definito di campioni nel gruppo di controllo. Il sistema Tigris DTS valuta automaticamente ciascun controllo nella lista di lavoro in base ai criteri di cui sopra, e invalida tutti i campioni nei gruppi di controllo interessati se i criteri di controllo non vengono soddisfatti. Consultare il *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del sistema DTS Tigris) per ulteriori dettagli.
5. I controlli negativi potrebbero non essere efficaci nel monitoraggio di contaminazione crociata casuale. Consultare *Prestazioni analitiche del sistema Tigris DTS* per i risultati di uno studio sulla contaminazione crociata analitica ad alto target svolto per dimostrare il controllo della contaminazione crociata sul sistema Tigris DTS. Consultare *Prestazioni analitiche del Panther System* per i risultati di uno studio sulla contaminazione crociata analitica ad alto target svolto per dimostrare il controllo della contaminazione crociata sul Panther system.

C. Controllo della preparazione dei campioni (opzionale)

Il controllo positivo, CT/controllo negativo, GC e il controllo positivo, GC/controllo negativo, CT forniti nel kit agiscono come controlli per i procedimenti di cattura del target, amplificazione e rilevamento del test, e devono essere inclusi in ogni sessione analitica. Se lo si desidera, controlli per la lisi cellulare e la stabilizzazione dell'RNA nei terreni di trasporto appropriati (soluzione PreservCyt, STM) possono essere analizzati secondo i requisiti di appropriate organizzazioni di certificazione o di procedure dei singoli laboratori. Campioni noti positivi possono fungere da controlli preparandoli e analizzandoli insieme a campioni non noti. I campioni usati come controlli della preparazione devono essere conservati, manipolati e analizzati secondo le istruzioni del foglietto illustrativo. I controlli della preparazione dei campioni vanno interpretati nello stesso modo descritto per i campioni di analisi dei pazienti. Consultare *Interpretazione del test – CQ/Risultati relativi ai pazienti*, *Risultati del test dei pazienti*.

D. Risultati del test dei pazienti

1. Se i controlli in qualsiasi sessione non forniscono i risultati attesi, i risultati del test sui campioni dei pazienti nella stessa sessione non vanno refertati.
2. Risultati di campioni di tamponi, campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e campioni di urina (consultare le Note sottostanti).

a. Risultati iniziali

CT Pos	Positivo per CT rRNA.
CT Neg	Presunto negativo per CT rRNA.
CT dubbio	Il campione va rianalizzato.
GC Pos	Positivo per GC rRNA.
GC Neg	Presunto negativo per GC rRNA.
GC dubbio	Il campione va rianalizzato.
Non valido	Il campione va rianalizzato.

b. Risultati della ripetizione dell'analisi

CT Pos	Positivo per CT rRNA.
CT Neg	Presunto negativo per CT rRNA.
CT dubbio	Indeterminato; va raccolto un nuovo campione.
GC Pos	Positivo per GC rRNA.
GC Neg	Presunto negativo per GC rRNA.
GC dubbio	Indeterminato; va raccolto un nuovo campione.
Non valido	Indeterminato; va raccolto un nuovo campione.

Note:

- Si raccomanda un'attenta considerazione dei dati delle prestazioni per l'interpretazione dei risultati del test Aptima Combo 2 assay relativi a individui asintomatici o a qualsiasi individuo in popolazioni a bassa prevalenza.
- Il primo risultato valido per ciascun analita è il risultato che va refertato.
- Un risultato negativo non preclude la presenza di infezione da CT o GC, perché i risultati dipendono da un'adeguata raccolta del campione, dall'assenza di inibitori e da una quantità sufficiente di rRNA da rilevare. I risultati del test possono essere influenzati da un'erronea raccolta dei campioni, da un'inadeguata conservazione dei campioni, da errori tecnici o da scambi di campioni.
- Come per tutti i metodi non basati su coltura, un campione positivo ottenuto da un paziente dopo il trattamento terapeutico non può essere interpretato come indicante la presenza di CT o GC vitali.
- Come per tutti i metodi di analisi dell'urina, un risultato negativo dell'urina per una paziente di sesso femminile per la quale si sospetta all'esame clinico un'infezione clamidiale o gonococcica non esclude la presenza di CT o GC nel tratto urogenitale. In tali casi si raccomanda l'analisi di un campione endocervicale.
- Si consiglia un tampone vaginale per le pazienti con infezione da clamidia o gonococcica sospetta o conclamata (29, 40).
- Se si raccolgono sia un tampone endocervicale sia un campione per Pap test, il campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt deve essere raccolto prima del campione di tampone endocervicale.

Limiti

- A. L'uso di questo test va limitato al personale che è stato addestrato nella relativa procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo può determinare risultati erranei.
- B. Campioni di tampone sono stati valutati nel test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS per rilevare l'interferenza da parte di sangue, lubrificanti ginecologici e spermicidi. Campioni di urina sono stati valutati per rilevare interferenza da parte di sangue, vitamine di uso comune, minerali e analgesici venduti senza prescrizione medica. Anche l'interferenza del sangue è stata valutata sul sistema Tigris DTS e sul Panther system. I campioni di tampone sono stati valutati anche sul Panther system per individuare interferenze da parte di farmaci per herpes, burro di cacao, calmanti per la tosse, dentifrici, collutori, creme per le emorroidi, lassativi, farmaci antidiarroici, antiacidi e feci. I dati hanno indicato che non vi è nessuna interferenza al test da parte di queste sostanze.
- C. Gli effetti dell'utilizzo di tamponi, di pulizia dell'area vaginale e di variabili nella raccolta dei campioni non sono stati valutati relativamente al loro impatto sul rilevamento di CT o GC.
- D. La presenza di muco nei campioni endocervicali non interferisce con il rilevamento di CT o GC da parte del test Aptima Combo 2 assay. Tuttavia, per assicurare la raccolta di cellule infette da CT, è necessario campionare le cellule colonnari epiteliali che rivestono l'endocervice. Se non viene rimosso il muco in eccesso, non si assicura il campionamento di queste cellule.
- E. Questo test è stato analizzato utilizzando esclusivamente i seguenti campioni:
- Campioni di tampone endocervicali, vaginali, uretrali maschili, faringei e rettali raccolti dal medico
 - Campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt raccolti da un medico
 - Campioni di tampone vaginali, faringei e rettali raccolti dal paziente
 - Campioni di urina femminile e maschile raccolti dal paziente
- Le prestazioni con campioni diversi da quelli raccolti con i seguenti kit di raccolta dei campioni non sono state valutate:
- Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tamponi uretrali maschili ed endocervicali
 - Kit di raccolta di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili
 - Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima
 - Kit di trasferimento dei campioni Aptima (per l'uso con i campioni ginecologici raccolti in soluzione PreservCyt)
- F. La raccolta di campioni di urina, di tampone vaginale e campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt non è concepita per sostituire gli esami cervicali e i campioni endocervicali per la diagnosi di infezioni dell'apparato urogenitale femminile. Le pazienti potrebbero essere affette da cervicite, uretrite, infezioni del tratto urinario o infezioni vaginali dovute ad altre cause o a infezioni concomitanti ad altri agenti patogeni.
- G. Il test Aptima Combo 2 assay non è concepito per la valutazione di sospetto abuso sessuale o per altre indicazioni di tipo medico-legale. Per le pazienti per cui un risultato falso positivo potrebbe avere un impatto psicosociale avverso, i CDC raccomandano la ripetizione dell'analisi (8).

- H. Risultati affidabili dipendono da un'appropriate raccolta dei campioni. Poiché il sistema di trasporto impiegato per questo test non permette la valutazione microscopica dell'adeguatezza dei campioni, è necessario addestrare i medici sulle appropriate tecniche di raccolta dei campioni. Consultare il foglietto illustrativo del kit di raccolta dei campioni Hologic appropriato.
- I. Il successo o il fallimento terapeutico non può essere determinato con il test Aptima Combo 2 assay poiché l'acido nucleico potrebbe persistere dopo la terapia antimicrobica appropriata.
- J. I risultati del test Aptima Combo 2 assay vanno interpretati insieme agli altri dati di laboratorio e clinici a disposizione del medico.
- K. Un risultato negativo non preclude una possibile infezione poiché i risultati dipendono da un'appropriate raccolta dei campioni. I risultati del test possono essere influenzati da un'inadeguata raccolta dei campioni, da errori tecnici, scambi di campioni o livelli target inferiori al limite di rilevamento del test.
- L. Il test Aptima Combo 2 assay offre risultati qualitativi. Non può quindi essere tracciata una correlazione fra l'intensità di un segnale positivo del test e il numero di organismi in un campione.
- M. Per gli studi clinici su campioni di tampone vaginale, tampone endocervicale, tampone uretrale maschile e di urina, le prestazioni per la rilevazione di CT e GC derivano da popolazioni ad alta prevalenza. I risultati positivi in popolazioni a bassa prevalenza vanno interpretati con cautela, tenendo presente che la probabilità di un falso positivo potrebbe essere più alta di quella di un vero positivo.
- N. Per gli studi clinici sui campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt, le prestazioni del test Aptima Combo 2 assay per il rilevamento di CT e GC derivano principalmente da popolazioni a bassa prevalenza. Ciononostante, risultati positivi in popolazioni a bassa prevalenza vanno interpretati con cautela, tenendo presente che la probabilità di un falso positivo potrebbe essere più alta di quella di un vero positivo.
- O. Le prestazioni del kit di trasferimento dei campioni Aptima non sono state valutate relativamente all'analisi dello stesso campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt sia prima sia dopo il trattamento del campione per Pap test ThinPrep.
- P. I campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt trattati con strumenti diversi dai processori ThinPrep 2000 o ThinPrep 5000 non sono stati valutati per l'utilizzo nei test Aptima.
- Q. I campioni di tampone vaginale raccolti dalla paziente rappresentano un'opzione di screening per le pazienti quando non è altrimenti indicato un esame pelvico.
- R. Le applicazioni del campione di tampone vaginale, faringeo e rettale raccolto dal paziente si limita a strutture sanitarie in cui sia disponibile il supporto/la consulenza per spiegare le precauzioni e le procedure da seguire.
- S. Il test Aptima Combo 2 assay non è stato autorizzato per l'utilizzo con campioni raccolti dai pazienti a casa.
- T. Le prestazioni del test Aptima Combo 2 assay non sono state valutate nelle donne di età inferiore ai 14 anni.

- U. Le prestazioni del sistema Tigris DTS non sono state determinate ad altitudini superiori a 2240 m (7355 piedi). Ulteriori verifiche volumetriche e studi specifici sul test verranno eseguiti prima o durante il processo di installazione e accettazione in laboratori situati a un'altitudine superiore ai 2240 m (7355 piedi).
- V. Le prestazioni del Panther system non sono state valutate ad altitudini superiori a 2000 m (6561 piedi).
- W. Non ci sono prove di degradazione degli acidi nucleici nella soluzione PreservCyt. Se il campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt presenta piccoli numeri di materiale cellulare di CT e GC, potrebbe verificarsi una distribuzione non omogenea di tale materiale cellulare. Inoltre, quando confrontato al campionamento diretto con il terreno di trasporto del tampone Aptima, il volume ulteriore di soluzione PreservCyt determina una maggiore diluizione del materiale campione. Questi fattori possono avere un impatto sulla capacità di rilevare piccoli numeri di organismi nel materiale raccolto. Se i risultati negativi derivanti dal campione non rispecchiano l'impressione clinica, potrebbe essere necessario un nuovo campione.
- X. Ciascun cliente deve convalidare in modo indipendente un processo di trasferimento al LIS.

Test Aptima Combo 2 - Valori previsti

Nota: i risultati seguenti sono stati generati utilizzando la versione originale del test Aptima Combo 2 Assay, tramite l'uso di sistemi DTS.

Prevalenza

La prevalenza della malattia da CT e/o GC nelle popolazioni dei pazienti dipende da fattori di rischio come età, sesso, la presenza di sintomi, il tipo di clinica e il metodo di analisi. Un riepilogo della prevalenza di tre esiti della malattia da CT e GC, secondo quanto determinato dal test Aptima Combo 2 assay, viene illustrato nelle Tabelle 1a, 1b e 1c per tre studi clinici multicentrici in base al centro clinico e complessivamente.

Prevalenza di malattia da *C. trachomatis* e/o *N. gonorrhoeae* come determinato dai risultati del test Aptima Combo 2 Assay in base al centro clinico

Tabella 1a: Campioni di tampone endocervicale e uretrale maschile e di urina

Centro	Tampone endocervicale e uretrale maschile % prevalenza (N. positivi/N. analizzati)						Urina % prevalenza (N. positivi/N. analizzati)					
	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)
Tutti	6,2	(173/2773)	13,2	(367/2773)	11,9	(331/2773)	5,7	(167/2918)	12,6	(367/2918)	10,6	(308/2918)

Tabella 1b: Campioni di tampone vaginale raccolto dalla paziente e campioni di tampone vaginale raccolto da un medico

Centro	Tampone vaginale raccolto dalla paziente % prevalenza (N. positivi/N. analizzati)						Tampone vaginale raccolto da un medico % prevalenza (N. positivi/N. analizzati)					
	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)
Tutti	2,4	(34/1434)	11,6	(167/1434)	3,3	(48/1434)	2,4	(35/1457)	12,1	(177/1457)	3,3	(48/1457)

Tabella 1c: Campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt

Centro	Campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt % prevalenza (N. positivi/N. analizzati)		
	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)
TUTTI	0,4 (6/1647)	5,6 (93/1647)	0,6 (10/1647)

La prevalenza di CT e GC è stata calcolata utilizzando i risultati del test Aptima Combo 2 assay relativi al campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt.

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

I valori predittivi positivi e negativi stimati (PPV e NPV) per diversi tassi di prevalenza utilizzando il test Aptima Combo 2 assay sono illustrati nelle Tabelle 2 e 3 per CT e GC, rispettivamente. Questi calcoli sono basati su una prevalenza ipotetica e sulla sensibilità e specificità generali calcolate dallo stato di pazienti infetti per due studi clinici multicentrici. La sensibilità e specificità generali per CT sono risultate rispettivamente pari a 96,1% e a 98,0% (Tabella 2). La sensibilità e specificità generali per GC sono risultate rispettivamente pari a 97,8% e a 99,2% (Tabella 3). I valori di PPV e NPV effettivi calcolati utilizzando i dati dello studio clinico sono mostrati nelle Tabelle 6a e 10a (campioni di tampone e urina), nelle Tabelle 6b e 10b (campioni di tampone vaginale) e nelle Tabelle 6c e 10c (campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt).

Tabella 2: PPV e NPV ipotetici per CT

Tasso di prevalenza (%)	Sensibilità (%)	Specificità (%)	Valore predittivo positivo (%)	Valore predittivo negativo (%)
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

Tabella 3: PPV e NPV ipotetici per GC

Tasso di prevalenza (%)	Sensibilità (%)	Specificità (%)	Valore predittivo positivo (%)	Valore predittivo negativo (%)
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

Test Aptima Combo 2 - Prestazioni cliniche

Nota: i risultati seguenti sono stati generati utilizzando la versione originale del test Aptima Combo 2 Assay, tramite l'uso di sistemi DTS.

Consultare il documento *Concordanza dei campioni clinici sul sistema Tigris DTS* seguendo la sezione *Aptima Combo 2 - Prestazioni analitiche* per le prestazioni cliniche specifiche del sistema Tigris DTS.

Risultati degli studi clinici

Le prestazioni per il test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS sono state stabilite in tre studi clinici multicentrici condotti nel Nord America. Il primo studio clinico multicentrico ha valutato tamponi endocervicali e uretrali maschili raccolti da un medico e campioni di urina maschili e femminili derivanti da 1363 pazienti di sesso maschile e 1569 pazienti di sesso femminile iscritti presso sette centri clinici geograficamente diversificati. Il secondo studio clinico multicentrico ha valutato campioni di tampone vaginale raccolti da un medico e raccolti dai pazienti derivanti da 1464 pazienti di sesso femminile iscritte presso otto centri clinici geograficamente diversificati. Il terzo studio clinico multicentrico ha valutato campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt derivanti da 1647 pazienti iscritte presso sei centri clinici. Nei calcoli sulle prestazioni basati sullo stato sintomatico, i pazienti sono stati classificati come sintomatici se riportavano sintomi come leucorrea, disuria e dolore pelvico. I pazienti sono stati classificati come asintomatici se non riportavano sintomi.

Studio clinico sui campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile e di urina

Nello studio clinico multicentrico sui campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile e di urina, sono stati iscritti allo studio 2932 pazienti di sesso maschile e femminile, sintomatici e asintomatici, frequentatori di cliniche per malattie a trasmissione sessuale, ginecologiche e per il controllo delle nascite. Sono stati raccolti fino a tre tamponi uretrali e un campione di urina per i pazienti di sesso maschile, e quattro tamponi endocervicali e un campione di urina per le pazienti di sesso femminile. Per i pazienti di sesso maschile che fornivano un tampone uretrale, l'analisi includeva solo coltura di GC. Per i pazienti di sesso maschile che fornivano tre tamponi, l'analisi includeva coltura di GC, il test Aptima Combo 2 assay e una NAAT disponibile in commercio per CT e GC. L'analisi sui tamponi endocervicali includeva il test Aptima Combo 2 assay, due NAAT disponibili in commercio per CT, una NAAT disponibile in commercio per GC e la coltura di GC. Il tampone di coltura GC è stato raccolto per primo e l'ordine di raccolta per i tamponi restanti è stato ruotato per ridurre al minimo le inclinazioni (bias) relative alla raccolta. L'urina è stata analizzata mediante il test Aptima Combo 2 assay, due NAAT disponibili in commercio per CT e una prova di amplificazione disponibile in commercio per GC. I test di amplificazione disponibili in commercio sono stati utilizzati come test di riferimento in questo studio clinico sul test Aptima Combo 2 assay.

Tutti i calcoli sulle prestazioni sono stati basati sul numero totale di campioni di tampone endocervicale e uretrale di sesso maschile Aptima Combo 2 assay e di campioni di urina maschile e femminile confrontati a un algoritmo di stato di infezione del paziente per ciascun genere. In ogni algoritmo specifico del genere, la designazione di un soggetto come infetto, non infetto o inconclusivo è stata basata sui risultati combinati dei risultati di riferimento NAAT relativi all'urina e al tampone endocervicale e uretrale maschile. Per lo stato infetto CT, due risultati qualsiasi di riferimento NAAT positivi, attraverso qualunque combinazione di tampone e urina, hanno designato il paziente come infetto. Se tutti i risultati del test di

riferimento erano negativi, il paziente era designato come non infetto. In caso di un solo risultato positivo, il soggetto era designato come inconclusivo. Per lo stato infetto GC, una coltura positiva o risultati positivi per tampone e urina mediante il test di amplificazione di riferimento, designavano il paziente come infetto. Una coltura negativa e un singolo risultato positivo mediante il test di amplificazione di riferimento determinavano uno stato inconclusivo. Se tutti i risultati del test di riferimento erano negativi, il paziente era designato come non infetto. Le Tabelle 7a, 7b, 7c, 8, 11a, 11b, 11c, e 12 riassumono la frequenza degli esiti del test per i due NAAT di riferimento e il test Aptima Combo 2 assay per i soggetti partecipanti allo studio clinico.

I risultati del test Aptima Combo 2 assay derivanti dai campioni di tampone endocervicale e di uretra maschile raccolti dal medico, e da campioni di urina maschile e femminile, sono stati confrontati all'algoritmo di stato di infezione del paziente per la determinazione dei valori di sensibilità, di specificità e predittivi. Nell'analisi dei dati è stato utilizzato un totale di 15.661 risultati del test per CT e 14.144 risultati di analisi per GC. La sensibilità e la specificità per CT in base a sesso, tipo di campione e stato sintomatico sono illustrate nella Tabella 5a. La Tabella 6a mostra i valori di sensibilità, specificità e predittivi del test Aptima Combo 2 assay per CT confrontati con lo stato di infezione pazienti per ciascun centro clinico e nel complesso. La sensibilità e la specificità per il rilevamento di GC in base a sesso, tipo di campione e stato sintomatico sono illustrate nella Tabella 9a. La Tabella 10a mostra i valori di sensibilità, specificità e predittivi del test Aptima Combo 2 assay per GC confrontati allo stato di infezione del paziente per ciascun centro clinico e nel complesso. I campioni che erano positivi con il test Aptima Combo 2 assay e negativi quanto a stato di infezione del paziente (ovvero erano falsi positivi apparenti) sono stati analizzati in test di amplificazione alternativi Hologic per la rilevazione di CT e GC. Questi test amplificano sequenze di CT e GC che sono diverse da quelle amplificate nel test Aptima Combo 2 assay. L'analisi è stata eseguita su un campione alla volta (ovvero non necessariamente su campioni abbinati di tampone e urina) e i risultati dei test di amplificazione alternativi non sono stati usati per cambiare le categorizzazioni originarie dei pazienti (Tabelle 5a e 9a).

I campioni di tampone endocervicale sono stati valutati per l'impatto del sangue sulle prestazioni del test per il rilevamento di CT e GC. Dei 2.454 campioni valutati per le prestazioni di rilevazione CT, 234 (il 9,5%) contenevano sangue. Dei 2.829 campioni valutati per le prestazioni di rilevazione GC, 247 (l'8,7%) contenevano sangue. Né le prestazioni del test per CT né quelle per GC sono risultate statisticamente diverse per i campioni contenenti sangue rispetto ai campioni che non lo contenevano. Ulteriori dati sulle analisi del sangue possono essere reperiti nella sezione *Sostanze interferenti*.

Le prestazioni del test con campioni di tampone endocervicale e di urina derivanti da donne incinte sono state valutate nello studio clinico. Per CT, la sensibilità per i campioni di tampone endocervicale e per i campioni di urina è stata rispettivamente del 100% (8/8) e del 100% (8/8). La specificità per i campioni di tampone endocervicale e per i campioni di urina è stata rispettivamente del 95,8% (23/24) e del 100% (24/24). Per GC, la sensibilità per i campioni di tampone endocervicale e per i campioni di urina è stata rispettivamente del 100% (8/8) e del 100% (8/8). La specificità per i campioni di tampone endocervicale e per i campioni di urina è stata rispettivamente del 100% (26/26) e del 100% (26/26).

Degli 11.406 risultati dell'analisi del test Aptima Combo 2 assay derivanti da questo studio clinico multicentrico, tre risultati CT e nove risultati GC erano dubbi alla ripetizione dell'analisi e sono stati esclusi dall'analisi. Un campione era non valido sia per i risultati CT sia per quelli GC ed è stato escluso dallo studio.

Studio clinico sui campioni di tampone vaginale

Nello studio clinico multicentrico sui tamponi vaginali, sono state iscritte allo studio clinico 1.464 pazienti femminili sintomatiche e asintomatiche che frequentavano cliniche per malattie a trasmissione sessuale, ginecologiche, per ragazze e per il controllo delle nascite. Delle 646 pazienti asintomatiche iscritte allo studio, due avevano meno di 16 anni, 158 avevano un'età compresa tra 16 e 20 anni, 231 avevano un'età compresa tra 21 e 25 anni e 255 avevano più di 25 anni. Delle 818 pazienti sintomatiche iscritte allo studio, 160 avevano un'età compresa tra 16 e 20 anni, 324 avevano un'età compresa tra 21 e 25 anni e 334 avevano più di 25 anni. Cinque campioni sono stati raccolti da ogni paziente idonea: un campione di urina, un tampone vaginale raccolto dalla paziente, un tampone vaginale raccolto da un medico e due tamponi endocervicali randomizzati. I risultati del test Aptima Combo 2 assay sono stati generati dai due tamponi vaginali, da uno dei tamponi endocervicali e da un'aliquota del campione di urina. Il secondo tampone endocervicale e una seconda aliquota del campione di urina sono stati analizzati usando un'altra NAAT disponibile in commercio per CT e un'altra NAAT disponibile in commercio per GC. I campioni di tampone endocervicale e di urina analizzati nel test Aptima Combo 2 assay e nelle altre NAAT disponibili in commercio sono stati usati come NAAT di riferimento per determinare lo stato di infezione di ciascuna paziente nello studio clinico sul campione di tampone vaginale. L'analisi dei campioni è stata eseguita presso il centro di iscrizione delle pazienti o presso un centro di analisi esterno.

Tutti i calcoli delle prestazioni sono stati basati sul numero totale di risultati del test Aptima Combo 2 assay relativi ai tamponi vaginali raccolti dalla paziente e raccolti da un medico confrontati con un algoritmo di stato di infezione delle pazienti. Nell'analisi dei dati è stato utilizzato un totale di 2.073 risultati del test di tampone vaginale per CT e 2.073 per GC. Nell'algoritmo, la designazione di una paziente come infetta o non infetta con CT o GC è stata basata sui risultati del campione di tampone endocervicale e di urina derivanti dal test Aptima Combo 2 assay disponibile in commercio e dall'altra NAAT disponibile in commercio. Le pazienti sono state considerate infette con CT o GC se due dei quattro campioni di tampone endocervicale e di urina davano risultati positivi nel test Aptima Combo 2 assay e nell'altra NAAT di riferimento (un campione positivo in ciascuna NAAT). Le pazienti sono state considerate non infette se meno di due risultati delle NAAT di riferimento risultavano positivi. Le Tabelle 7b e 11b riassumono il numero di risultati derivanti da pazienti sintomatiche e asintomatiche designate come infette o non infette da CT o GC, rispettivamente, secondo l'algoritmo dello stato di infezione della paziente. Per questo studio clinico, sono state usate due NAAT disponibili in commercio per determinare lo stato di infezione GC. Non è stata utilizzata una coltura come analisi di riferimento, dal momento che il test Aptima Combo 2 assay è già stato valutato relativamente alla coltura per altri tipi di campione (per dettagli in merito, consultare la sezione *Studio clinico sui campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile e di urina*).

La sensibilità e la specificità per CT in base a sesso, tipo di campione e stato sintomatico sono illustrate nella Tabella 5b. La Tabella 6b mostra i valori di sensibilità, specificità e predittivi del test Aptima Combo 2 assay per CT confrontati con lo stato di infezione pazienti per ciascun centro clinico e nel complesso. La sensibilità e la specificità per il rilevamento di GC in base a sesso, tipo di campione e stato sintomatico sono illustrate nella Tabella 9b. La Tabella 9b mostra i valori di sensibilità, specificità e predittivi del test Aptima Combo 2 assay per GC confrontati allo stato di infezione del paziente per ciascun centro clinico e nel complesso. I campioni che sono risultati positivi con il test Aptima Combo 2 assay e negativi relativamente allo stato di infezione della paziente (ovvero falsi positivi apparenti) sono stati analizzati in test TMA alternativi per CT e GC; questi test TMA alternativi prendono di mira sequenze diverse da quelle prese di mira nel test Aptima Combo 2 assay. I risultati dei test TMA alternativi non sono stati utilizzati per cambiare le categorizzazioni originarie delle pazienti (Tabelle 5b e 9b).

Delle 1.464 pazienti iscritte, sono risultate 13 soggetti con stato di infezione CT della paziente non noto e 14 soggetti con stato di infezione GC della paziente non noto. Le pazienti sono state designate con uno stato di infezione della paziente non noto quando mancavano risultati che impedivano la determinazione conclusiva dello stato di infezione. I risultati relativi a questi soggetti non sono stati inclusi in alcun calcolo sulle prestazioni. Dei 5.782 risultati del test Aptima Combo 2 assay relativi al tampone vaginale derivanti dallo studio clinico multicentrico, è stata rilevata una piccola percentuale (28, 0,5%) di campioni di tampone vaginale che inizialmente ha dato all'analisi risultati non validi o dubbi per CT o GC. Dopo la ripetizione dell'analisi solo tre risultati CT e due risultati GC sono stati dubbi e sono stati esclusi dall'analisi dei dati. Nessun campione è risultato non valido alla ripetizione dell'analisi.

Studio clinico relativo ai campioni per Pap test in liquido PreservCyt

È stato condotto uno studio clinico multicentrico prospettico per valutare l'utilizzo della soluzione PreservCyt (un componente del sistema ThinPrep 2000) come mezzo alternativo per i campioni ginecologici per il rilevamento di CT e GC. Milleseicentoquarantasette (1.647) soggetti di sesso femminile sintomatici e asintomatici, frequentatori di cliniche ginecologiche, per il controllo delle nascite, per la salute pubblica, per donne e per malattie a trasmissione sessuale sono stati valutati nello studio clinico. Delle 1.647 pazienti disponibili, 1.288 erano asintomatiche e 359 erano sintomatiche. Le pazienti sono state arruolate da centri con prevalenza di CT con percentuali comprese tra il 3,2% e il 14,0% e di prevalenza di GC con percentuali comprese tra lo 0% e il 5,0%. Da ogni paziente idonea sono stati raccolti due campioni: un campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt e un tampone endocervicale. I campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt sono stati trattati secondo le istruzioni contenute nel ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual (Manuale per l'operatore del processore ThinPrep 2000) e nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima. Dopo aver trattato il campione per Pap raccolto in liquido PreservCyt con il Processore ThinPrep 2000, il campione è stato trasferito nel kit di trasferimento dei campioni Aptima per l'analisi con il test Aptima Combo 2 assay. I campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e i campioni di tampone endocervicale sono stati analizzati con il test Aptima Combo 2 assay.

La sensibilità e la specificità per i campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt sono state calcolate confrontando i risultati a un algoritmo dello stato di infezione delle pazienti. Nell'algoritmo, la designazione di una paziente come infetta o non infetta da CT o GC si basava sui risultati del tampone endocervicale derivanti da due NAAT disponibili in commercio (Tabelle 7c e 11c). Per CT, le NAAT di riferimento includevano il test Aptima Combo 2 assay e il test Aptima CT assay. Per GC, le NAAT di riferimento includevano il test Aptima Combo 2 assay e il test Aptima GC assay. Per stabilire una paziente come *infetta* erano necessari risultati positivi da entrambe le NAAT. Una paziente era dichiarata *non infetta* se i risultati delle due NAAT di riferimento erano discordanti o negativi.

La sensibilità e la specificità per CT nei campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt analizzati nel test Aptima Combo 2 assay, in base allo stato sintomatico e nel complesso, sono presentate nella Tabella 5c. Per CT, la sensibilità complessiva è stata del 96,7% (87/90). Nelle pazienti sintomatiche e asintomatiche, la sensibilità è stata rispettivamente del 96,7% (29/30) e del 96,7% (58/60). La specificità complessiva per CT per i campioni per Pap raccolti in liquido PreservCyt è stata del 99,2% (1545/1557). Nelle pazienti sintomatiche e asintomatiche, la specificità è stata rispettivamente del 98,5% (324/329) e del 99,4% (1221/1228). La Tabella 6c mostra i valori di sensibilità e specificità del test Aptima Combo 2 assay per CT nei campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt in base al centro clinico e nel complesso. Per CT, la sensibilità era compresa tra il 92,9% e il 100%. La specificità andava dal 97,7% al 100%.

La sensibilità e la specificità per GC nei campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt analizzati nel test Aptima Combo 2 assay, in base allo stato sintomatico e nel complesso, sono presentate nella Tabella 9c. Per GC, la sensibilità complessiva è stata del 92,3% (12/13). Nelle pazienti sintomatiche e asintomatiche, la sensibilità è stata rispettivamente del 100% (7/7) e del 83,3% (5/6). La specificità complessiva per GC per i campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt è stata del 99,8% (1630/1634). Nelle pazienti sintomatiche e asintomatiche, la specificità è stata rispettivamente del 100% (352/352) e del 99,7% (1278/1282). La Tabella 10c mostra i valori di sensibilità e specificità del test Aptima Combo 2 assay per GT nei campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt in base al centro clinico e nel complesso. Per GC, la sensibilità andava dall'80,0% al 100%. La specificità andava dal 99,0% al 100%.

La distribuzione dei dispositivi di campionamento cervicale utilizzati in questo studio clinico secondo il centro clinico è riassunta nella Tabella 4.

Tabella 4: Sommario dei dispositivi di campionamento cervicale utilizzati nello studio sui campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt

Dispositivo di campionamento cervicale	Centro clinico di raccolta						Totale
	1	2	3	4	5	6	
Spatola/Spazzola	0	124	475	287	57	364	1307
Spazzolino per prelievo endocervicale	100	0	0	0	240	0	340

Tabelle sulle prestazioni per *Chlamydia trachomatis*Sensibilità e specificità per *C. trachomatis*

Tabella 5a: Campioni con test Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Campione		Stato sintomatico	N	TP	FP ^a	TN	FN	Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)
Maschile	Tampone	Sintomat.	676	190	15 ^a	464	7	96,4% (92,8 – 98,6)	96,9% (94,9 – 98,2)
		Asintomat.	388	70	5 ^b	309	4	94,6% (86,7 – 98,5)	98,4% (96,3 – 99,5)
		Tutti ⁱ	1065	260	20 ^c	774	11	95,9% (92,9 – 98,0)	97,5% (96,1 – 98,5)
	Urina	Sintomat.	694	199	8 ^d	484	3	98,5% (95,7 – 99,7)	98,4% (96,8 – 99,3)
		Asintomat.	400	77	4 ^e	316	3	96,3% (89,4 – 99,2)	98,8% (96,8 – 99,7)
		Tutti ⁱ	1095	276	12 ^f	801	6	97,9% (95,4 – 99,2)	98,5% (97,4 – 99,2)
Femminile	Tampone	Sintomat.	819	133	22 ^g	653	11	92,4% (86,7 – 96,1)	96,7% (95,1 – 97,9)
		Asintomat.	569	61	6 ^h	501	1	98,4% (91,3 – 100)	98,8% (97,4 – 99,6)
		Tutti ⁱ	1389	195	28 ⁱ	1154	12	94,2% (90,1 – 97,0)	97,6% (96,6 – 98,4)
	Urina	Sintomat.	821	136	8 ^j	668	9	93,8% (88,5 – 97,1)	98,8% (97,7 – 99,5)
		Asintomat.	569	60	5 ^k	502	2	96,8% (88,8 – 99,6)	99,0% (97,7 – 99,7)
		Tutti ⁱ	1391	197	13 ^l	1170	11	94,7% (90,7 – 97,3)	98,9% (98,1 – 99,4)
Totale	Tampone	Sintomat.	1495	323	37 ^m	1117	18	94,7% (91,8 – 96,8)	96,8% (95,6 – 97,7)
		Asintomat.	957	131	11 ⁿ	810	5	96,3% (91,6 – 98,8)	98,7% (97,6 – 99,3)
		Tutti ^o	2454	455	48 ^p	1928	23	95,2% (92,9 – 96,9)	97,6% (96,8 – 98,2)
	Urina	Sintomat.	1515	335	16 ^q	1152	12	96,5% (94,0 – 98,2)	98,6% (97,8 – 99,2)
		Asintomat.	969	137	9 ^r	818	5	96,5% (92,0 – 98,8)	98,9% (97,9 – 99,5)
		Tutti ^o	2486	473	25 ^r	1971	17	96,5% (94,5 – 98,0)	98,7% (98,2 – 99,2)

TP = vero positivo; FP = falso positivo; TN = vero negativo; FN = falso negativo.

¹ Include 1 paziente di sesso maschile per il quale non sono stati riportati sintomi.

² Include 1 paziente di sesso femminile per il quale non sono stati riportati sintomi.

³ Include 1 paziente di sesso maschile e 1 paziente di sesso femminile per i quali non sono stati riportati sintomi.

⁴ I risultati CT per la TMA alternativa rappresentano il N. di risultati positivi/N. di campioni analizzati: 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, ed r: 7/25.

Tabella 5b: Campioni di tampone vaginale con test Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Campione		Stato sintomatico	N	TP	FP ¹	TN	FN	Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)
Raccolto dalla paziente	Tampone vaginale	Asintomat.	628	60	18 ^a	549	1	98,4% (91,2 – 100)	96,8% (95,0 – 98,1)
		Sintomat.	809	111	25 ^b	669	4	96,5% (91,3 – 99,0)	96,4% (94,7 – 97,7)
Raccolto dal medico	Tampone vaginale	Asintomat.	636	59	16 ^c	559	2	96,7% (88,7 – 99,6)	97,2% (95,5 – 98,4)
		Tutti	1445	170	41 ^d	1228	6	96,6% (92,7 – 98,7)	96,8% (95,6 – 97,7)

TP = vero positivo; FP = falso positivo; TN = vero negativo; FN = falso negativo.

¹ I risultati CT per la TMA di amplificazione alternativa rappresentano il N. di risultati positivi/N. di campioni analizzati: a: 15/18; b: 17/25; c: 15/16, e d: 32/41.

Tabella 5c: Campioni in PreservCyt con Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Stato sintomatico	Risultato PreservCyt con AC2/CT					Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)
		+/+	+/-	-/+	-/-		
Asintomat.	Positivo	58	1	0	6	96,7% (88,5 – 99,6)	99,4% (98,8 – 99,8)
	Negativo	2	1	12	1208		
	Totale	60	2	12	1214		
Sintomat.	Positivo	29	0	0	5	96,7% (82,8 – 99,9)	98,5% (96,5 – 99,5)
	Negativo	1	3	4	317		
	Totale	30	3	4	322		
Tutti	Positivo	87	1	0	11	96,7% (90,6 – 99,3)	99,2% (98,7 – 99,6)
	Negativo	3	4	16	1525		
	Totale	90	5	16	1536		

+/+ = risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2/risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test ACT.

+/- = risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2/risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test ACT.

-/+ = risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2/risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test ACT.

-/- = risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2/risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test ACT.

Prestazioni per *C. trachomatis* in base al centro clinico

Tabella 6a: Campione con test Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Campione	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)	PPV (%)	NPV (%)
Tampone	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
TUTTI	1065	260	20	774	11	25,4	95,9% (92,9 – 98,0)	97,5% (96,1 – 98,5)	92,9	98,6	
Maschile											
Urina	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
TUTTI	1095	276	12	801	6	25,8	97,9% (95,4 – 99,2)	98,5% (97,4 – 99,2)	95,8	99,3	
Tampone	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
TUTTI	1389	195	28	1154	12	14,9	94,2% (90,1 – 97,0)	97,6% (96,6 – 98,4)	87,4	99,0	
Femminile											
Urina	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
TUTTI	1391	197	13	1170	11	15,0	94,7% (90,7 – 97,3)	98,9% (98,1 – 99,4)	93,8	99,1	

TP = vero positivo; FP = falso positivo; TN = vero negativo; FN = falso negativo.

* Prevalenza sopravvalutata a causa della raccolta iniziale limitata allo screening per pazienti sintomatici.

Tabella 6b: Campioni di tampone vaginale con test Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Campione	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev. (%)	Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)	PPV (%)	NPV (%)	
Raccolto dalla paziente	Tampone vaginale	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
		TUTTI	628	60	18	549	1	9,7	98,4% (91,2 – 100)	96,8% (95,0 – 98,1)	76,9	99,8
Raccolto dal medico	Tampone vaginale	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
		TUTTI	1445	170	41	1228	6	12,2	96,6% (92,7 – 98,7)	96,8% (95,6 – 97,7)	80,6	99,5

TP = vero positivo; FP = falso positivo; TN = vero negativo; FN = falso negativo.

Tabella 6c: Campioni in PreservCyt con Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Centro	Risultato PreservCyt con AC2/CT	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)	PPV (%)	NPV (%)
1	Positivo	14	0	0	2	14,0	100% (76,8 – 100)	97,7% (91,9 – 99,7)	87,5	100
	Negativo	0	0	1	83					
	Totale	14	0	1	85					
2	Positivo	4	0	0	0	3,2	100% (39,8 – 100)	100% (97,0 – 100)	100	100
	Negativo	0	0	2	118					
	Totale	4	0	2	118					
3	Positivo	29	0	0	2	6,5	93,5% (78,6 – 99,2)	99,5% (98,4 – 99,9)	93,5	99,5
	Negativo	2	0	2	440					
	Totale	31	0	2	442					
4	Positivo	8	1	0	4	2,8	100% (63,1 – 100)	98,2% (95,9 – 99,4)	61,5	100
	Negativo	0	2	1	271					
	Totale	8	3	1	275					
5	Positivo	13	0	0	2	4,7	92,9% (66,1 – 99,8)	99,3% (97,5 – 99,9)	86,7	99,6
	Negativo	1	1	4	276					
	Totale	14	1	4	278					
6	Positivo	19	0	0	1	5,2	100% (82,4 – 100)	99,7% (98,4 – 100)	95,0	100
	Negativo	0	1	6	337					
	Totale	19	1	6	338					
Tutti	Positivo	87	1	0	11	5,5	96,7% (90,6 – 99,3)	99,2% (98,7 – 99,6)	87,9	99,8
	Negativo	3	4	16	1525					
	Totale	90	5	16	1536					

+/+ = risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2/risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test ACT.

+/- = risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2/risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test ACT.

-/+ = risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2/risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test ACT.

-/- = risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2/risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test ACT.

Analisi di *Chlamydia trachomatis* per lo stato di infezione di pazienti di sesso femminile

Tabella 7a: Tampone endocervicale e campione di urina

Stato di infezione pazienti	NAAT 1		NAAT 2		Test Aptima Combo 2 Assay		Stato sintomatico	
	FU	FS	FU	FS	FU	FS	Sintomat.	Asintomat.
Infetto	NP	NP	+	+	+	+	1	0
Infetto	NP	+	NP	+	+	+	1	0
Infetto	NP	+	+	+	-	+	0	1
Infetto	-	+	NP	+	-	+	1	0
Infetto	-	+	-	+	-	+	4	0
Infetto	-	+	-	+	+	+	6	1
Infetto	-	+	+	+	-	+	1	0
Infetto	-	+	+	+	+	+	7	3
Infetto	+	NP	+	+	+	+	1	0
Infetto	+	-	NP	+	+	-	1	0
Infetto	+	-	+	-	-	-	1	0
Infetto	+	-	+	-	+	-	7	1
Infetto	+	-	+	-	+	+	2	1
Infetto	+	-	+	+	+	-	1	0
Infetto	+	-	+	+	+	+	3	3
Infetto	+	+	NP	+	+	+	6	2
Infetto	+	+	-	NP	+	+	1	0
Infetto	+	+	-	+	+	+	7	3
Infetto	+	+	+	NP	+	+	1	0
Infetto	+	+	+	-	+	+	2	2
Infetto	+	+	+	+	-	-	1	0
Infetto	+	+	+	+	-	+	1	1
Infetto	+	+	+	+	+	NP	1	0
Infetto	+	+	+	+	+	+	88	44
Non infetto	-	-	-	-	NP	-	1	1
Non infetto	-	-	-	-	-	NP	2	1
Non infetto	-	-	-	-	-	-	648	497
Non infetto	-	-	-	-	-	+	18	4
Non infetto	-	-	-	-	+	-	4	3
Non infetto	-	-	-	-	+	+	4	2
Totale							822	570

FU = urina femminile; FS = tampone endocervicale femminile.

"NP" indica un campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi.

Tabella 7b: Campione di tampone vaginale raccolto dalla paziente e raccolto da un medico

Stato di infezione pazienti	NAAT 1		NAAT 2 (Aptima Combo 2)		Test Aptima Combo 2 Assay		Stato sintomatico		Totale
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sintom.	Asintom.	
Infetto	+	+	+	+	+	+	79	43	122
Infetto	+	+	+	+	+	-	0	1	1
Infetto	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infetto	+	+	+	+	NP	-	1	0	1
Infetto	+	-	+	+	+	+	8	5	13
Infetto	+	-	+	+	-	-	1	0	1
Infetto	+	-	+	+	NP	+	1	0	1
Infetto	+	=	+	+	+	+	1	0	1
Infetto	-	+	+	+	+	+	8	3	11
Infetto	-	+	+	+	-	-	1	0	1
Infetto	-	-	+	+	+	+	1	2	3
Infetto	-	NP	+	+	+	+	1	0	1
Infetto	+	+	+	-	+	+	5	3	8
Infetto	+	-	+	-	+	+	5	0	5
Infetto	+	-	+	-	-	+	2	0	2
Infetto	+	+	-	+	+	+	0	1	1
Infetto	-	+	-	+	+	+	1	4	5
Infetto	-	+	-	+	+	-	1	0	1
Infetto	-	+	-	+	-	-	0	1	1
Non infetto	-	-	+	-	+	+	0	4	4
Non infetto	-	-	+	-	+	-	2	1	3
Non infetto	-	-	+	-	-	+	2	1	3
Non infetto	-	-	+	-	-	-	6	4	10
Non infetto	-	-	+	-	NP	+	1	0	1
Non infetto	-	-	+	-	NP	-	1	0	1
Non infetto	-	-	-	+	+	+	4	2	6
Non infetto	-	-	-	+	+	-	1	0	1
Non infetto	-	-	-	+	-	-	0	2	2
Non infetto	+	-	-	-	-	-	1	1	2
Non infetto	-	+	-	-	-	-	1	2	3
Non infetto	-	-	-	-	+	+	3	2	5
Non infetto	-	-	-	-	+	-	2	7	9
Non infetto	-	-	-	-	-	+	12	3	15
Non infetto	-	-	-	-	-	-	623	516	1139
Non infetto	-	-	-	-	-	NP	0	2	2
Non infetto	-	-	-	-	-	=	1	0	1
Non infetto	-	-	-	-	NP	+	0	1	1
Non infetto	-	-	-	-	NP	-	11	8	19
Non infetto	-	-	-	-	NP	NP	1	0	1
Non infetto	-	-	-	-	NP	=	0	1	1
Non infetto	-	-	-	-	=	+	0	1	1
Non infetto	-	NP	-	-	-	-	2	2	4
Non infetto	-	NP	-	-	NP	-	0	1	1
Non infetto	-	=	-	-	-	-	12	9	21
Non infetto	-	=	-	-	-	NP	0	1	1
Non infetto	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Non infetto	-	-	-	NP	-	-	0	1	1
Non infetto	-	-	NP	-	-	-	5	4	9

Tabella 7b: Campione di tampone vaginale raccolto dalla paziente e raccolto da un medico (continua)

Stato di infezione pazienti	NAAT 1		NAAT 2 (Aptima Combo 2)		Test Aptima Combo 2 Assay		Stato sintomatico		Totale
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sintom.	Asintom.	
Non infetto	-	-	=	-	-	+	1	0	1
Non infetto	-	-	=	-	-	-	1	0	1
Totale							811	640	1451

FS = tampone endocervicale femminile; FU = urina femminile; PVS = tampone vaginale raccolto dalla paziente asintomatica; CVS = tampone vaginale raccolto da un medico. "NP" indica un campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) rappresenta un risultato dubbio alla ripetizione dell'analisi.

Tabella 7c: Risultati dello stato di infezione pazienti dello studio clinico sui campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt per C. trachomatis

Stato di infezione pazienti	Risultato del tampone endocervicale		Stato sintomatico	
	AC2	ACT	Sintom.	Asintom.
Infetto	+	+	30	60
Non infetto	-	+	4	12
Non infetto	+	-	3	2
Non infetto	-	-	322	1214
Totale			359	1288

Analisi di C. trachomatis per lo stato di infezione di pazienti di sesso maschile**Tabella 8: Analisi di C. trachomatis in campione di tampone uretrale e urinario per lo stato di infezione di pazienti di sesso maschile**

Stato di infezione pazienti	NAAT 1		NAAT 2	Test Aptima Combo 2 Assay		Stato sintomatico	
	MU	MS	MU	MU	MS	Sintomat.	Asintomat.
Infetto	NP	+	+	+	+	2	0
Infetto	-	+	+	+	+	10	4
Infetto	+	NP	+	+	NP	4	6
Infetto	+	NP	+	+	-	2	0
Infetto	+	NP	+	+	+	21	1
Infetto	+	-	+	+	-	3	3
Infetto	+	-	+	+	+	4	3
Infetto	+	+	NP	-	+	1	0
Infetto	+	+	NP	+	+	8	2
Infetto	+	+	-	+	+	12	4
Infetto	+	+	+	-	-	1	0
Infetto	+	+	+	-	+	1	3
Infetto	+	+	+	+	NP	1	0
Infetto	+	+	+	+	-	1	1
Infetto	+	+	+	+	+	131	53
Non infetto	-	-	-	NP	-	0	2
Non infetto	-	-	-	-	NP	13	8
Non infetto	-	-	-	-	-	461	303
Non infetto	-	-	-	-	+	10	5
Non infetto	-	-	-	+	-	3	4
Non infetto	-	-	-	+	+	5	0
Totale						694	402

MU = urina maschile; MS = tampone uretrale maschile.

"NP" indica un campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi.

Tabelle di prestazione per *Neisseria gonorrhoeae*Sensibilità e specificità per *N. gonorrhoeae*

Tabella 9a: Campioni con test Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Campione		Sintomi	N	TP	FP ^a	TN	FN	Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)
Maschile	Tampone	Sintomat.	724	304	5 ^a	412	3	99,0% (97,2 – 99,8)	98,8% (97,2 – 99,6)
		Asintomat.	378	15	12 ^b	351	0	100% (78,2 – 100)	96,7% (94,3 – 98,3)
		Tutti ¹	1103	319	17 ^c	764	3	99,1% (97,3 – 99,8)	97,8% (96,5 – 98,7)
	Urina	Sintomat.	750	311	1 ^d	433	5	98,4% (96,3 – 99,5)	99,8% (98,7 – 100)
		Asintomat.	383	13	2 ^e	368	0	100% (75,3 – 100)	99,5% (98,1 – 99,9)
		Tutti ¹	1134	324	3 ^f	802	5	98,5% (96,5 – 99,5)	99,6% (98,9 – 99,9)
Femminile	Tampone	Sintomat.	881	94	15 ^g	772	0	100% (96,2 – 100)	98,1% (96,9 – 98,9)
		Asintomat.	596	31	2 ^h	562	1	96,9% (83,8 – 99,9)	99,6% (98,7 – 100)
		Tutti ²	1479	126	17 ⁱ	1335	1	99,2% (95,7 – 100)	98,7% (98,0 – 99,3)
	Urina	Sintomat.	883	87	7 ^j	782	7	92,6% (85,3 – 97,0)	99,1% (98,2 – 99,6)
		Asintomat.	599	28	3 ^k	564	4	87,5% (71,0 – 96,5)	99,5% (98,5 – 99,9)
		Tutti ²	1484	116	10 ^l	1347	11	91,3% (85,0 – 95,6)	99,3% (98,6 – 99,6)
Totale	Tampone	Sintomat.	1605	398	20 ^m	1184	3	99,3% (97,8 – 99,8)	98,3% (97,4 – 99,0)
		Asintomat.	974	46	14 ⁿ	913	1	97,9% (88,7 – 99,9)	98,5% (97,5 – 99,2)
		Tutti ³	2582	445	34 ^o	2099	4	99,1% (97,7 – 99,8)	98,4% (97,8 – 98,9)
	Urina	Sintomat.	1633	398	8 ^p	1215	12	97,1% (94,9 – 98,5)	99,3% (98,7 – 99,7)
		Asintomat.	982	41	5 ^q	932	4	91,1% (78,8 – 97,5)	99,5% (98,8 – 99,8)
		Tutti ³	2618	440	13 ^r	2149	16	96,5% (94,4 – 98,0)	99,4% (99,0 – 99,7)

TP = vero positivo; FP = falso positivo; TN = vero negativo; FN = falso negativo.

¹ Include 1 paziente di sesso maschile per il quale non sono stati riportati sintomi.

² Include 1 paziente di sesso femminile per il quale non sono stati riportati sintomi.

³ Include 1 paziente di sesso maschile e 1 paziente di sesso femminile per i quali non sono stati riportati sintomi.

⁴ I risultati GT per la TMA alternativa rappresentano il N. di risultati positivi/N. di campioni analizzati: 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, ed r: 6/12.

Tabella 9b: Campioni di tampone vaginale con test Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Campione		Stato sintomatico	N	TP	FP ¹	TN	FN	Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)
Raccolto dalla paziente	Tampone vaginale	Asintomat.	629	21	3 ^a	605	0	100% (83,9 – 100)	99,5% (98,6 – 99,9)
		Sintomat.	807	51	7 ^b	747	2	96,2% (87,0 – 99,5)	99,1% (98,1 – 99,6)
Raccolto dal medico	Tampone vaginale	Asintomat.	637	21	4 ^c	611	1	95,5% (77,2 – 99,9)	99,3% (98,3 – 99,8)
		Tutti	1444	72	11 ^d	1358	3	96,0% (88,8 – 99,2)	99,2% (98,6 – 99,6)

TP = vero positivo; FP = falso positivo; TN = vero negativo; FN = falso negativo.

¹ I risultati GC per la TMA di amplificazione alternativa rappresentano il N. di risultati positivi/N. di campioni analizzati: a: 3/3, b: 6/7, c: 3/4, e d: 9/11.

Tabella 9c: Campioni in PreservCyt con Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Stato sintomatico	Risultato PreservCyt con AC2/GC				Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)	
	+/+	+/-	-/+	-/-			
Asintomat.	Positivo	5	0	1 ¹	3	83,3% (35,9 – 99,6)	99,7% (99,2 – 99,9)
	Negativo	1	0	5	1273		
	Totale	6	0	6	1276		
Sintomat.	Positivo	7	0	0	0	100% (59,0 – 100)	100% (99,0 – 100)
	Negativo	0	0	0	352		
	Totale	7	0	0	352		
Tutti	Positivo	12	0	1	3	92,3% (64,0 – 99,8)	99,8% (99,4 – 99,9)
	Negativo	1	0	5	1625		
	Totale	13	0	6	1628		

¹ Un campione ha avuto un risultato contraddittorio: risultato dubbio del campione di tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 assay/risultato positivo del campione di tampone endocervicale nel test Aptima GC assay.

+/+ = risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2 assay/risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AGC assay.

+/- = risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2 assay/risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AGC assay.

-/+ = risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2 assay/risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AGC assay.

-/- = risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2 assay/risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AGC assay.

Prestazioni per *Neisseria gonorrhoeae* in base al centro clinico

Tabella 10a: Campioni con test Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Campione	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)	PPV (%)	NPV (%)
Tampone	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
TUTTI	1103	319	17	764	3	29,2	99,1% (97,3 – 99,8)	97,8% (96,5 – 98,7)	94,9	99,6	
Maschile	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
TUTTI	1134	324	3	802	5	29,0	98,5% (96,5 – 99,5)	99,6% (98,9 – 99,9)	99,1	99,4	
Tampone	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
TUTTI	1479	126	17	1335	1	8,6	99,2% (95,7 – 100)	98,7% (98,0 – 99,3)	88,1	99,9	
Femminile	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
TUTTI	1484	116	10	1347	11	8,6	91,3% (85,0 – 95,6)	99,3% (98,6 – 99,6)	92,1	99,2	

TP = vero positivo; FP = falso positivo; TN = vero negativo; FN = falso negativo.

* Prevalenza sopravvalutata a causa della raccolta iniziale limitata allo screening per pazienti sintomatici.

Tabella 10b: Campioni di tampone vaginale con test Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Campione	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)	PPV (%)	NPV (%)	
Raccolto dalla paziente	Tampone vaginale	1	70	5	1	65	0	7,1	100% (47,8 – 100)	98,5% (91,7 – 100)	83,3	100
		2	46	7	0	39	0	15,2	100% (59,0 – 100)	100% (91,0 – 100)	100	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100% (15,8 – 100)	100% (91,8 – 100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100% (2,5 – 100)	100% (97,6 – 100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100% (2,5 – 100)	100% (97,2 – 100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100% (47,8 – 100)	97,1% (90,1 – 99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0	N/P	100% (94,7 – 100)	N/P	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	N/P	100% (91,8 – 100)	N/P	100
		TUTTI	629	21	3	605	0	3,3	100% (83,9 – 100)	99,5% (98,6 – 99,9)	87,5	100
Raccolto dal medico	Tampone vaginale	1	227	12	3	212	0	5,3	100% (73,5 – 100)	98,6% (96,0 – 99,7)	80,0	100
		2	196	31	2	163	0	15,8	100% (88,8 – 100)	98,8% (95,7 – 99,9)	93,9	100
		3	113	3	0	109	1	3,5	75,0% (19,4 – 99,4)	100% (96,7 – 100)	100	99,1
		4	262	5	2	255	0	1,9	100% (47,8 – 100)	99,2% (97,2 – 99,9)	71,4	100
		5	198	2	0	196	0	1,0	100% (15,8 – 100)	100% (98,1 – 100)	100	100
		6	296	18	4	272	2	6,8	90,0% (68,3 – 98,8)	98,6% (96,3 – 99,6)	81,8	99,3
		7	102	0	0	102	0	0,0	N/P	100% (96,4 – 100)	N/P	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100% (2,5 – 100)	100% (92,7 – 100)	100	100
		TUTTI	1444	72	11	1358	3	5,2	96,0% (88,8 – 99,2)	99,2% (98,6 – 99,6)	86,7	99,8

TP = vero positivo; FP = falso positivo; TN = vero negativo; FN = falso negativo.

Tabella 10c: Campioni in PreservCyt con Aptima Combo 2 Assay rispetto allo stato di infezione pazienti

Centro	Risultato PreservCyt con AC2/GC	Risultato				Prev (%)	Sensibilità (IC del 95%)	Specificità (IC del 95%)	PPV (%)	NPV (%)
		+/+	+/-	-/+	-/-					
1	Positivo	5	0	0	0	5,0	100% (47,8 – 100)	100% (96,2 – 100)	100	100
	Negativo	0	0	0	95					
	Totale	5	0	0	95					
2	Positivo	1	0	0	0	0,8	100% (2,5 – 100)	100% (97,0 – 100)	100	100
	Negativo	0	0	0	123					
	Totale	1	0	0	123					
3	Positivo	4	0	0	0	1,1	80,0% (28,4 – 99,5)	100% (99,2 – 100)	100	99,8
	Negativo	1	0	0	470					
	Totale	5	0	0	470					
4	Positivo	1	0	0	0	0,3	100% (2,5 – 100)	100% (98,7 – 100)	100	100
	Negativo	0	0	3	283					
	Totale	1	0	3	283					
5	Positivo	0	0	0	3	0,0	N/P	99,0% (97,1 – 99,8)	0,0	100
	Negativo	0	0	0	294					
	Totale	0	0	0	297					
6	Positivo	1	0	1 ¹	0	0,3	100% (2,5 – 100)	99,7% (98,5 – 100)	50,0	100
	Negativo	0	0	2	360					
	Totale	1	0	3	360					
Tutti	Positivo	12	0	1	3	0,8	92,3% (64,0 – 99,8)	99,8% (99,4 – 99,9)	75,0	99,9
	Negativo	1	0	5	1625					
	Totale	13	0	6	1628					

¹ Un campione ha avuto un risultato contraddittorio: risultato dubbio del campione di tampone endocervicale nel test Aptima Combo 2 assay/risultato positivo del campione di tampone endocervicale nel test Aptima GC assay.

+/+ = risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2 assay/risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AGC assay.

+/- = risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2 assay/risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AGC assay.

-/+ = risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2 assay/risultato positivo per il campione di tampone endocervicale nel test AGC assay.

-/- = risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AC2 assay/risultato negativo per il campione di tampone endocervicale nel test AGC assay.

Analisi di *Neisseria gonorrhoeae* per lo stato di infezione di pazienti di sesso femminile

Tabella 11a: Tampone endocervicale e campione di urina

Stato di infezione pazienti	NAAT		Coltura	Test Aptima Combo 2 Assay		Stato sintomatico	
	FU	FS	FS	FU	FS	Sintom.	Asintom.
Infetto	NP	+	+	+	+	1	1
Infetto	-	-	+	-	-	0	1
Infetto	-	+	+	-	+	5	2
Infetto	-	+	+	+	+	9	2
Infetto	+	NP	+	+	+	1	0
Infetto	+	-	+	+	+	3	1
Infetto	+	+	NP	+	+	0	1
Infetto	+	+	-	+	+	11	2
Infetto	+	+	+	-	+	2	1
Infetto	+	+	+	+	+	62	21
Non infetto	-	-	-	-	NP	2	3
Non infetto	-	-	-	-	-	768	559
Non infetto	-	-	-	-	+	12	2
Non infetto	-	-	-	+	-	4	3
Non infetto	-	-	-	+	+	3	0
Totale						883	599

FU = urina femminile; FS = tampone endocervicale femminile.

"NP" indica un campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi.

Tabella 11b: Analisi del campione di tampone vaginale raccolto dalla paziente e raccolto da un medico

Stato di infezione pazienti	NAAT 1		NAAT 2		Test Aptima Combo 2 Assay		Stato sintomatico		Totale
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sintomat.	Asintomat.	
Infetto	+	+	+	+	+	+	44	15	59
Infetto	+	+	+	+	+	-	1	0	1
Infetto	+	+	+	+	NP	+	0	1	1
Infetto	+	-	+	+	+	+	2	2	4
Infetto	+	NP	+	+	+	+	1	0	1
Infetto	-	+	+	+	+	+	1	1	2
Infetto	-	-	+	+	+	+	1	1	2
Infetto	+	+	+	-	+	+	1	0	1
Infetto	+	-	+	-	+	+	1	1	2
Infetto	+	-	+	-	+	-	1	0	1
Infetto	+	+	-	+	+	+	1	0	1
Infetto	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infetto	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infetto	+	+	-	-	-	+	1	0	1
Non infetto	-	-	+	-	-	-	5	1	6
Non infetto	-	-	-	+	-	-	1	0	1
Non infetto	+	-	-	-	+	+	1	0	1
Non infetto	+	-	-	-	-	-	5	2	7
Non infetto	-	+	-	-	+	+	0	1	1
Non infetto	-	+	-	-	-	-	2	1	3
Non infetto	-	-	-	-	+	+	2	0	2
Non infetto	-	-	-	-	+	-	1	1	2
Non infetto	-	-	-	-	-	+	2	2	4
Non infetto	-	-	-	-	-	-	698	577	1275
Non infetto	-	-	-	-	-	NP	0	2	2
Non infetto	-	-	-	-	-	=	2	0	2
Non infetto	-	-	-	-	NP	-	15	9	24
Non infetto	-	-	-	-	NP	NP	1	0	1
Non infetto	-	NP	-	-	-	-	2	2	4
Non infetto	-	NP	-	-	NP	-	0	1	1
Non infetto	-	=	-	-	-	-	11	10	21
Non infetto	-	=	-	-	-	NP	0	1	1
Non infetto	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Non infetto	-	-	-	NP	-	-	0	1	1
Non infetto	-	-	NP	-	-	-	5	4	9
Non infetto	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Totale							810	640	1450

FS = tampone endocervicale femminile; **FU** = urina femminile; **PVS** = tampone vaginale raccolto dalla paziente asintomatica; **CVS** = tampone vaginale raccolto da un medico; "ND" indica un campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi. Il simbolo di uguale (=) rappresenta un risultato dubbio alla ripetizione dell'analisi.

Analisi di *N. gonorrhoeae* per lo stato di infezione di pazienti di sesso femminile
Tabella 11: Risultati dello stato di infezione pazienti dello studio clinico sui campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt per *N. gonorrhoeae*

Stato di infezione pazienti	Risultato del tampone endocervicale		Stato sintomatico	
	AC2	AGC	Sintom.	Asintom.
Infetto	+	+	7	6
Non infetto	=	+	0	1
Non infetto	-	+	0	5
Non infetto	-	-	352	1276
Totale			359	1288

Analisi di *N. gonorrhoeae* per lo stato di infezione di pazienti di sesso maschile

Tabella 12: Tampone uretrale e campione di urina

Stato di infezione pazienti	NAAT 1		Coltura	Test Aptima Combo 2 Assay		Stato sintomatico	
	MU	MS		MU	MS	Sintom.	Asintom.
Infetto	NP	+	+	+	+	1	0
Infetto	-	NP	+	NP	+	0	1
Infetto	-	NP	+	+	+	1	0
Infetto	-	-	+	-	-	1	0
Infetto	-	+	+	+	+	4	1
Infetto	+	NP	+	NP	+	0	1
Infetto	+	NP	+	+	NP	8	0
Infetto	+	NP	+	+	-	1	0
Infetto	+	NP	+	+	+	50	1
Infetto	+	-	+	+	+	4	1
Infetto	+	+	NP	+	+	1	0
Infetto	+	+	-	+	+	11	1
Infetto	+	+	+	-	-	1	0
Infetto	+	+	+	-	+	3	0
Infetto	+	+	+	+	NP	1	0
Infetto	+	+	+	+	+	229	9
Non infetto	-	-	-	NP	-	0	1
Non infetto	-	-	-	NP	+	0	1
Non infetto	-	-	-	-	NP	17	9
Non infetto	-	-	-	-	-	411	349
Non infetto	-	-	-	-	+	5	10
Non infetto	-	-	-	+	-	1	1
Non infetto	-	-	-	+	+	0	1
Totale						750	387

MU = urina maschile; **MS** = tampone uretrale maschile; NP = campione non ottenuto o non disponibile per l'analisi.

Distribuzione delle RLU dei controlli Aptima

La distribuzione delle RLU per il controllo positivo Aptima, GC/controllo negativo, CT Aptima e per il controllo positivo, CT/controllo negativo, GC Aptima derivante da tutte le sessioni sul test Aptima Combo 2 assay eseguite durante gli studi clinici sui campioni è presentata nella Tabella 13.

Tabella 13: Distribuzione delle RLU totali dei controlli del test Aptima Combo 2 Assay

Controllo	Statistica	RLU totali (x 1000)		
		Studio clinico sui campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile e di urina	Studio clinico sui campioni di tampone vaginale	Studio clinico relativo ai campioni per Pap test in liquido PreservCyt
Controllo positivo, CT/Controllo negativo, GC	Massimo	1572	1996	1747
	75° percentile	1160	1279	1264
	Mediana	1063	1135	1165
	25° percentile	996	933	1024
	Minimo	274	174	494
Controllo positivo, GC/Controllo negativo, CT	Massimo	1359	1420	1438
	75° percentile	1202	1255	1288
	Mediana	1093	1169	1201
	25° percentile	989	1084	1099
	Minimo	167	249	166

Studio sulla precisione

L'analisi della precisione è stata eseguita presso tre centri, per ottenere misurazioni di ripetibilità e riproducibilità. Gli studi sulla precisione sono stati condotti nell'ambito dello studio clinico sui campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile e di urina, nonché nello studio clinico sui campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt. Per il primo studio, a ogni centro sono stati forniti tre pannelli identici di 13 campioni contenenti da 0 a 500 fg di CT rRNA, da 0 a 25.000 fg di GC rRNA o combinazioni sia di CT rRNA sia di GC rRNA. Le analisi sono state condotte nell'arco di tre giorni usando ogni giorno un diverso lotto di kit del test. Le statistiche descrittive relative alle RLU complessive, durante una sessione, tra una sessione e l'altra e tra un centro e l'altro sono riassunte nella Tabella 14a.

Per il secondo studio sulla precisione, la riproducibilità è stata stabilita con un pannello di 12 componenti generato mediante l'aggiunta alla soluzione PreservCyt di una quantità da 0 a 2.000 fg/test di CT rRNA e da 0 a 5.000 fg/test di GC rRNA e aliquotando 1,0 ml nella provetta di raccolta del kit di trasporto dei campioni Aptima. Due (2) operatori presso ciascuno dei tre centri hanno eseguito una sessione al giorno in ciascuno dei tre giorni, per un totale di tre sessioni valide per operatore. L'analisi è stata eseguita utilizzando un lotto di kit del test. I risultati di questo studio sulla precisione sono riassunti nella Tabella 14b.

Per entrambi gli studi, la riproducibilità è stata stabilita aggiungendo rRNA al terreno di trasporto appropriato (STM, soluzione PreservCyt). Non è stata determinata la riproducibilità quando sono stati analizzati campioni clinici di tampone, urina o per Pap test raccolti in liquido PreservCyt contenenti organismo target.

Tabella 14a: Terreno di trasporto del tampone

Elemento del pannello	N	Media RLU (x1000)	Durante la sessione		Tra una sessione e l'altra		Tra centri diversi		
			DS (RLU)	CV (%)	DS (RLU)	CV (%)	DS (RLU)	CV (%)	
Alta	Tampone CT	54	1.055	76.588	7,3	83.711	7,9	150.332	14,2
	Tampone doppio*	54	2.338	93.449	4,0	90.317	3,9	142.898	6,1
	Urina doppia*	54	2.281	91.487	4,0	106.715	4,7	152.747	6,7
Media	Tampone GC	54	1.265	30.561	2,4	55.642	4,4	34.413	2,7
	Tampone CT	54	1.001	69.831	7,0	77.701	7,8	159.774	16,0
	Tampone doppio*	54	2.241	152.377	6,8	58.353	2,6	139.983	6,2
Bassa	Tampone GC	54	1.249	35.142	2,8	60.638	4,9	46.364	3,7
	Tampone CT	54	1.013	61.795	6,1	90.906	9,0	131.207	13,0
	Tampone doppio*	54	2.085	286.034	13,7	161.764	7,8	58.837	2,8
Negativo	Urina doppia*	54	2.201	95.705	4,3	118.760	5,4	106.802	4,9
	Tampone GC	54	1.177	42.478	3,6	69.821	5,9	29.836	2,5
	Tampone	54	7	1.301	18,3	2.311	32,5	1.901	26,8
	Urina	54	7	861	12,0	2.299	32,1	1.994	27,9

* I componenti del pannello positivi doppi contenevano sia CT rRNA sia GC rRNA.

Tabella 14b: Soluzione PreservCyt

Concentrazione (fg/test)		N	Concordanza	Media RLU (x1000)	Durante la sessione		Tra una sessione e l'altra		Tra centri diversi		Tra operatori diversi	
CT	GC				DS (x1000)	CV (%)	DS (x1000)	CV (%)	DS (x1000)	CV (%)	DS (x1000)	CV (%)
0	0	162	97,5%	9,7	31,6	N/P	3,4	N/P	6,4	N/P	4,7	N/P
0	5.000	54	96,3%	1296	146	11,3	54,8	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0
2.000	0	54	100%	1140	54,1	4,7	79,8	7,0	101	8,9	2,4	0,2
2.000	5.000	54	100%	2345	79,6	3,4	78,0	3,3	94,7	4,0	37,9	1,6
0	250	54	100%	953	114	12,0	0,0	0,0	161	16,9	90,7	9,5
5	0	54	100%	971	58,3	6,0	71,7	7,4	22,8	2,4	85,0	8,8
1.000	2.500	54	100%	2294	114	5,0	88,9	3,9	153	6,7	0,0	0,0
100	250	54	98,1%	1911	139	7,3	130	6,8	348	18,2	39,7	2,1
5	5.000	54	100%	2136	113	5,3	130	6,1	98,8	4,6	166	7,8
2.000	250	54	96,3%	2044	138	6,7	169	8,3	360	17,6	26,9	1,3

RLU = unità di luce relativa; DS = deviazione standard; CV = coefficiente di variazione; N/P rappresenta un campione non pertinente per gli elementi del pannello negativo.

I campioni con risultati contraddittori o dubbi sono stati inclusi nell'analisi della variabilità del segnale.

Per i valori di CV e DS pari a 0,0, la variabilità dovuta a questa fonte è molto piccola rispetto ad altre fonti di variazione.

Aptima Combo 2 - Prestazioni analitiche

Nota: i risultati seguenti sono stati generati utilizzando la versione originale del test Aptima Combo 2 Assay, tramite l'uso di sistemi DTS.

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

Consultare *Caratteristiche delle prestazioni analitiche del Panther System* per le prestazioni analitiche specifiche del Panther system.

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica (limiti di rilevamento) per *Chlamydia trachomatis* è stata determinata confrontando direttamente diluizioni di organismi CT in coltura cellulare e nel test. La dichiarazione di sensibilità analitica per il test è di una Unità formante inclusione (IFU) per test (7,25 IFU/tampone, 5,0 IFU/ml di urina, 9,75 IFU/ml di campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt) per tutti e 15 i serovar CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3). Tuttavia, diluizioni inferiori a 1,0 IFU/test di tutti i serovar hanno fornito all'analisi risultati positivi nel test Aptima Combo 2 assay.

La sensibilità analitica per *Neisseria gonorrhoeae* è stata determinata confrontando direttamente diluizioni di 57 diversi isolati clinici in coltura e nel test Aptima Combo 2 assay con campioni di tampone e di urina e 20 isolati clinici con campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt. La dichiarazione di sensibilità analitica per il test è di 50 cellule/test (362 cellule/tampone, 250 cellule/ml di urina, 488 cellule/ml di campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt). Tuttavia, tutti i ceppi analizzati sono risultati positivi a meno di 50 cellule/test.

Specificità analitica

Un totale di 198 organismi è stato valutato utilizzando il test Aptima Combo 2 assay in due studi. Uno studio iniziale includeva 154 isolati di coltura contenenti 86 organismi che potrebbero essere isolati dal tratto urogenitale e 68 ulteriori organismi che rappresentano uno spaccato filogenetico degli organismi. Uno studio aggiuntivo per campioni non genitali includeva 44 microbi che potevano essere rilevati su tamponi non genitali. Gli organismi analizzati includevano batteri, funghi, lieviti, parassiti e virus.

Nello studio iniziale, tutti gli organismi, a eccezione di *C. psittaci*, *C. pneumoniae* e dei virus sono stati analizzati a $1,0 \times 10^6$ cellule/test sia in tampone sia in terreno di trasporto dell'urina. Gli organismi Chlamydia e Neisseria sono stati analizzati in soluzione PreservCyt. *C. psittaci* e *C. pneumoniae* sono stati analizzati a $1,0 \times 10^5$ IFU/test. I virus sono stati analizzati come indicato di seguito: (a) virus dell'herpes simplex I e II: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) virus del papilloma umano 16: $2,9 \times 10^6$ DNA copie/test e (c) citomegalovirus: $4,8 \times 10^5$ cellule coltura cellulare infette/test.

Nel secondo studio, tutti gli organismi sono stati analizzati in STM. Tutti gli isolati non virali sono stati analizzati a $1,0 \times 10^6$ CFU/ml, a eccezione di *Bacteriodes oralis*, *Fusobacterium necrophorum* e *Peptostreptococcus micros* che sono stati analizzati a $1,0 \times 10^6$ RNA copie/ml. I virus sono stati analizzati a $1,0 \times 10^5$ TCID₅₀/ml tranne per Norovirus di gruppo II: $1,0 \times 10^6$ TCID₅₀/ml, enterovirus di tipo 68: $1,0 \times 10^4$ TCID₅₀/ml e i virus dell'influenza che sono stati analizzati a $2,0 \times 10^3$ TCID₅₀/ml. Solo i campioni di CT e GC hanno fornito risultati positivi nel test Aptima Combo 2 assay. L'elenco di organismi analizzati nel primo studio è

indicato nella Tabella 15 e gli organismi analizzati nel secondo studio sono mostrati nella Tabella 16.

Tabella 15: Specificità analitica

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

“(n)” rappresenta il numero dei ceppi analizzati.

Tutti gli organismi analizzati hanno fornito un risultato negativo nel test Aptima Combo 2 assay in base al tipo di profilo cinetico e alle RLU.

Tabella 16: Microrganismi con reattività crociata per campioni faringei e rettali

Organismo	Organismo	Organismo
Adenovirus	<i>Eggerthella lenta</i>	Metapneumovirus
<i>Anaerococcus spp.</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	Enterovirus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Bacteroides oralis</i>	Virus di Epstein-Barr	Norovirus
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Prevotella spp.</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	Virus respiratorio sinciziale
<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Rhinovirus
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	Virus dell'epatite B	<i>Shigella flexneri</i>
Coronavirus	Virus dell'epatite C	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Virus dell'influenza umana A	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	Virus dell'influenza umana B	<i>Streptococcus anginosus group</i>
Virus Coxsackie	<i>Legionella jordanis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
Echovirus	<i>Legionella micdadei</i>	

Sostanze interferenti

Le seguenti sostanze interferenti sono state aggiunte singolarmente nei campioni di tampone e per Pap test raccolti in liquido PreservCyt: sangue al 10%, gel contraccettivo, spermicida, idratante, anestetico per emorroidi, olio per il corpo, polveri, crema antimicotica, lubrificanti vaginali, spray femminili e leucociti ($1,0 \times 10^6$ cellule/ml). Le seguenti sostanze interferenti sono state aggiunte individualmente nei campioni di urina: sangue al 30%, analiti dell'urina, proteina, glucosio, chetoni, bilirubina, nitrato, urobilinogeno, pH 4 (acido), pH 9 (alcalino), leucociti ($1,0 \times 10^6$ cellule/ml), detriti cellulari, vitamine, minerali, acetaminofene, aspirina e ibuprofene. Tutte sono state analizzate relativamente a una potenziale interferenza con il test in assenza e in presenza di CT e GC all'equivalente di rRNA stimato di 1,0 IFU CT /test (5 fg/test) e 50 cellule GC/test (250 fg/test). Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ciascun organismo.

Non è stata osservata alcuna interferenza con nessuna delle sostanze analizzate. Non sono stati rilevati inibitori dell'amplificazione nel test Aptima Combo 2 assay.

Recupero

Escherichia coli e *Gardnerella vaginalis* ($2,4 \times 10^5$ cellule/test) e *Lactobacillus acidophilus*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides ureolyticus* e *Staphylococcus epidermis* ($1,0 \times 10^8$ cellule/test) sono stati aggiunti a campioni contenenti l'equivalente di rRNA di circa 1,0 IFU CT (5 fg) e 50 cellule GC (250 fg). Queste aggiunte non hanno interferito con l'amplificazione e con il rilevamento di CT rRNA o GC rRNA usando il test Aptima Combo 2 assay.

Studi sulla stabilità dei campioni

A. Campioni di tampone endocervicale

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni di tampone endocervicale sono stati generati con campioni di tampone negativi raggruppati. Cinque campioni raggruppati sono stati arricchiti di CT e GC a concentrazioni finali di 10 IFU e 100 CFU per reazione, rispettivamente. I campioni arricchiti sono conservati a -70 °C, -20 °C, 4 °C e 30 °C. I campioni sono stati analizzati in duplicato nei giorni 0, 20, 35, 60 e 90. Tutte le condizioni dell'analisi sono risultate positive sia per CT sia per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

B. Campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni di Pap test raccolti in liquido PreservCyt sono stati generati con campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt negativi raggruppati. Quattro campioni raggruppati sono stati arricchiti con CT e GC a concentrazioni finali di 10 IFU e 100 CFU per reazione, rispettivamente. I campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt sono stati lasciati a 30 °C per 7 giorni, dopo i quali 1,0 ml del campione è stato aggiunto a una provetta di trasferimento Aptima. I campioni arricchiti sono stati conservati a 4 °C, 10 °C e 30 °C. I campioni sono stati analizzati in duplicato nei giorni 0, 6, 13, 26, 30 e 36. I campioni conservati a 30 °C sono stati analizzati in duplicato nei giorni 0, 5, 8, 14 e 17. Quattro pool di campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt sono stati aggiunti alle provette di trasferimento Aptima e tenuti a 30 °C per 14 giorni prima di essere conservati a -20 °C o -70 °C. I campioni a -20 °C e i campioni a -70 °C sono stati analizzati in duplicato dopo 0, 30, 60, 90 e 106 giorni di conservazione. Tutte le condizioni dell'analisi sono risultate positive sia per CT sia per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

C. Campioni di tampone vaginale

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni di tampone vaginale sono stati generati con campioni di tampone negativi raggruppati. Quindici campioni raggruppati sono stati arricchiti con CT e GC a concentrazioni finali di 1,0 IFU e 50 CFU per reazione, rispettivamente. I campioni arricchiti sono stati conservati a -70 °C, -20 °C, 4 °C e 30 °C. I campioni sono stati analizzati in duplicato nei giorni 0, 20, 36, 73 e 114. Tutte le condizioni dell'analisi sono risultate positive sia per CT sia per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

D. Campioni di urina

I dati a sostegno delle condizioni di spedizione e conservazione raccomandate per i campioni di urina sono stati generati con dieci campioni di urina femminile e dieci campioni di urina maschile. I campioni di urina sono stati arricchiti con CT e GC a concentrazioni finali di 10 IFU e 100 CFU per reazione, rispettivamente. Due serie di campioni di urina arricchiti sono state tenute a 4 °C e 30 °C per 24 ore prima di essere aggiunte al terreno di trasporto dell'urina (UTM). Le due serie di campioni UTM sono state quindi tenute a 4 °C e 30 °C e analizzate in triplicato nei giorni 0, 1, 5, 20 e 35. Tutti i campioni sono risultati positivi sia per CT sia per GC quando i campioni di urina erano stati tenuti a 4 °C prima di essere aggiunti all'UTM. Quando i campioni di urina erano stati tenuti a 30 °C prima dell'aggiunta all'UTM, tutti i campioni sono risultati positivi per CT e il 95% dei campioni è risultato positivo per GC al giorno 35. Questi stessi campioni sono stati analizzati dopo 116 giorni di conservazione a -20 °C e -70 °C. Tutti i campioni sono risultati positivi sia per CT sia per GC in entrambe le condizioni di conservazione.

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

Sono stati generati dati a supporto delle condizioni di conservazione a -20 °C raccomandate per i campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale, di tampone vaginale, di urina femminile, di urina maschile e campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt, utilizzando 90 campioni di ciascun tipo con risultati negativi, 30 dei quali erano stati arricchiti con CT e GC a 1,0 IFU e 50 CFU per reazione, rispettivamente; 30 campioni erano stati arricchiti a 0,1 IFU e 5 CFU per reazione, rispettivamente; e 30 campioni sono stati lasciati invariati. I campioni sono stati conservati a -20 °C e analizzati nei giorni 0, 200 e 400. Tutti i campioni arricchiti hanno soddisfatto i criteri di accettabilità della concordanza del 95% con i risultati previsti.

Concordanza dei campioni clinici sul sistema Tigris DTS

Concordanza sul sistema Tigris DTS

La concordanza tra i risultati del test Aptima Combo 2 assay generati sul sistema Tigris DTS completamente automatizzato e sui sistemi DTS semi-automatizzati è stata valutata analizzando campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile, di urina femminile e maschile, di tampone vaginale e campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt. Ciascuno dei campioni clinici è stato analizzato singolarmente con il test Aptima Combo 2 assay sia sul sistema Tigris DTS sia sui sistemi DTS presso Hologic.

Studio sulla concordanza dei campioni clinici - Campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile e di urina femminile e maschile

Pazienti maschili e femminili che frequentavano cliniche per malattie a trasmissione sessuale, di pronto soccorso, di salute pubblica e di controllo delle nascite sono stati iscritti presso sette centri clinici geograficamente diversificati con prevalenza per CT e GC da bassa ad alta. Lo studio sulla concordanza dei campioni clinici ha valutato la concordanza tra i due sistemi utilizzando campioni di tampone e di urina derivanti da 485 pazienti di sesso maschile e 576 pazienti di sesso femminile. Dei 1.991 campioni analizzati, c'è stata una piccola percentuale che inizialmente ha fornito risultati non validi o dubbi per CT o GC sul sistema Tigris DTS (20, 1,0%) e sui sistemi DTS (14, 0,7%). Alla ripetizione dell'analisi, due (2) campioni clinici mostravano risultati dubbi per GC sul sistema Tigris DTS, che non sono stati inclusi nei calcoli di equivalenza. Sono stati calcolati l'accordo percentuale complessivo e gli accordi percentuali positivi e negativi. I campioni che hanno fornito risultati contraddittori tra i sistemi DTS e il sistema Tigris DTS sono stati analizzati con test di amplificazione TMA alternativi per CT e GC, ovvero test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) che mirano a sequenze di CT rRNA o GC rRNA diverse da quelle mirate nel test Aptima Combo 2 assay. Una ripetizione del test con Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS è stata eseguita anche su campioni che hanno fornito risultati contraddittori con il sistema Tigris DTS e i sistemi DTS.

Le Tabelle 17 e 18 mostrano le concordanze percentuali complessive per tutti i risultati del test abbinate ottenute sul sistema Tigris DTS e sui sistemi DTS per campioni di tampone e di urina, rispettivamente. Le concordanze complessive sono state del 98,3% per i campioni di tampone e del 99,2% per i campioni di urina. Consultare le Tabelle 5a e 9a per le stime sulle prestazioni del test Aptima Combo 2 per campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile e di urina maschile e femminile analizzati sui sistemi DTS. Si prevede che le stime delle prestazioni cliniche per il sistema Tigris DTS con campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile e di urina femminile e maschile siano simili, considerati gli esiti di concordanza.

Studio sulla concordanza dei campioni clinici – Campioni di tampone vaginale e campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt

Le pazienti che frequentavano cliniche per malattie a trasmissione sessuale, di salute pubblica e ginecologiche hanno fornito i campioni di tampone vaginale e per Pap test raccolti in liquido PreservCyt. I campioni di tampone vaginale sono stati trasferiti direttamente a Hologic per l'analisi, mentre i campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt sono stati trattati presso 2 laboratori di citopatologia prima di essere trasferiti. Presso Hologic, i campioni di tampone vaginale e per Pap test raccolti in liquido PreservCyt sono stati dapprima sottoposti a screening con il test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS. I campioni con risultati finali non validi o dubbi sui sistemi DTS non sono stati selezionati per

l'ulteriore analisi sul sistema Tigris DTS. I campioni positivi del test Aptima Combo 2 assay e un sottogruppo di campioni negativi del test Aptima Combo 2 assay sono stati selezionati per l'analisi di confronto sul sistema Tigris DTS. Centosettanta (170) campioni di tampone vaginale e 170 campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt derivanti da 181 pazienti di sesso femminile sono stati analizzati su entrambi i sistemi. La maggior parte dei campioni (110 campioni di tampone vaginale e 107 campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt) selezionati per l'analisi di confronto provenivano da donne sintomatiche. Sono state avviate diciassette (17) liste di lavoro: 13 (76,5%) sono risultate valide e 4 (23,5%) sono state invalidate perché lo strumento ha rilevato un background elevato al luminometro. Lo strumento aveva raccordi Detect 1 e 2 allentati che potrebbero aver permesso l'ingresso di aria nelle linee o l'iniezione di quantità erronee di reagenti di rilevamento. Queste liste di lavoro sono risultate valide alla ripetizione dell'analisi. Dei 340 campioni analizzati, nessuno ha avuto risultati del test iniziali non validi o dubbi sul sistema Tigris DTS.

Le Tabelle 19 e 20 mostrano le concordanze percentuali complessive per il rilevamento di CT e GC per tutti i risultati dei test abbinati ottenuti sul sistema Tigris DTS e sui sistemi DTS per campioni di tampone vaginale e campioni per Pap raccolti in liquido PreservCyt, rispettivamente. Le concordanze complessive sono risultate pari al 98,2% per i campioni di tampone vaginale e al 98,2% per i campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt. Consultare le Tabelle 5b, 5c, 9b, e 9c per le stime delle prestazioni del test Aptima Combo 2 assay per campioni di tampone vaginale e campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt analizzati sui sistemi DTS. Si prevede che le stime delle prestazioni cliniche per il sistema Tigris DTS con campioni di tampone vaginale e campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt siano simili, considerati gli esiti di concordanza.

Studio sulla concordanza del pannello clinico CT/GC – Campioni di tampone endocervicale, di tampone uretrale maschile e di urina femminile e maschile

Lo studio sulla concordanza del pannello clinico CT/GC ha valutato l'equivalenza fra i due sistemi utilizzando 13 pannelli clinici CT/GC preparati da Hologic contenenti da 0 a 2.500 Unità formanti inclusione (IFU)/ml di CT e/o da 0 a 125.000 Unità formanti colonia (CFU)/ml di GC. I pannelli clinici CT/GC sono stati creati da campioni di tampone e di urina raccolti da 222 pazienti di sesso maschile e da 117 pazienti di sesso femminile, determinati non infetti in base ai risultati negativi dei campioni di tampone e urina con il test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS. Ciascuno dei 13 pannelli CT/GC era composto da 5 replicati di ciascun tipo di campione (tampone endocervicale, tampone uretrale maschile, urina femminile e urina maschile) per un totale di 20 replicati per pannello.

La Tabella 21 mostra le concordanze percentuali con i risultati CT e GC previsti per il sistema Tigris DTS e per i sistemi DTS per ciascuno dei 13 pannelli CT/GC. Le concentrazioni erano comprese tra 10 volte al di sotto e 1000 volte al di sopra dei limiti di dichiarazione analitica del test Aptima Combo 2 assay di 1 IFU/test per CT e di 50 CFU/test per GC. La Tabella 21 mostra anche la concordanza percentuale complessiva (99,3%) tra i risultati del pannello CT/GC derivanti dal sistema Tigris DTS e quelli derivanti dai sistemi DTS. Le concordanze positive e negative sono mostrate nelle Tabelle 22 e 23 per i risultati del pannello CT e GC, rispettivamente. Per i pannelli relativi a tampone e urina, le concordanze positive sono state del 100% e del 96,2%, rispettivamente, per CT, e sono state entrambe del 100% per GC. Le concordanze negative per tampone e urina sono state del 100% e del 98,0%, rispettivamente, per CT, e sono state entrambe del 100% per GC. Tre dei 5 replicati del pannello di urina femminile, che erano inferiori di un log alla dichiarazione di sensibilità analitica del test Aptima Combo 2 assay di 1 IFU/test per CT, sono risultati CT- sul sistema Tigris. Uno dei 5 replicati del pannello di urina femminile derivanti da un pannello separato è risultato CT- sui sistemi DTS.

Tabella 17: Studio di concordanza del campione clinico: risultati dei campioni di tampone endocervicale e uretrale maschile¹

Sistema Tigris DTS	sistemi DTS				Totale
	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
Totale	31	120	69	798	1018
Percentuale concordanza (IC del 95%)	96,8% (83,3 – 99,9)	90,0% (83,2 – 94,7)	97,1% (89,9 – 99,6)	99,7% (99,1 – 100)	n/p
Concordanza percentuale complessiva (IC del 95%): 98,3% (97,3 – 99,0)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/p = non pertinente.

¹ Dati non mostrati: due campioni hanno fornito all'analisi risultati CT-/GC dubbi sia sul sistema Tigris sia sui sistemi DTS. Un campione ha fornito all'analisi il risultato CT-/GC- sul sistema Tigris DTS, ma CT-/GC dubbio sui sistemi DTS. Quando rianalizzato nel test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS, questo campione ha fornito all'analisi un risultato CT-/GC-. Il campione ha anche fornito all'analisi il risultato GC- nel test di amplificazione alternativa TMA.

² 1/1 era CT+/GC+ quando rianalizzato sui sistemi DTS ed era CT+ nel test di amplificazione alternativa TMA.

³ 11/12 sono stati rianalizzati. 11/11 erano CT-/GC- quando rianalizzati nel test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS. 9/11 erano CT- quando analizzati nel test di amplificazione alternativa TMA e 2/11 erano CT+.

⁴ 2/2 erano CT-/GC- quando rianalizzati nel test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS ed era GC- nel test di amplificazione alternativa TMA.

⁵ 2/2 erano CT-/GC- quando rianalizzati nel test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS ed era GC- nel test di amplificazione alternativa TMA.

Tabella 18: Studio di concordanza del campione clinico: risultati dei campioni di urina femminile e maschile

Sistema Tigris DTS	sistemi DTS				Totale
	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
Totale	32	108	53	777	970
Percentuale concordanza (IC del 95%)	100% (89,1 – 100)	92,6% (85,9 – 96,7)	98,1% (89,9 – 100)	99,9% (99,3 – 100)	n/p
Concordanza percentuale complessiva (IC del 95%): 99,2% (98,1 – 99,5)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/p = non pertinente.

¹ 7/8 erano CT-/GC- quando rianalizzati nel test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS ed era GC- nel test di amplificazione alternativa TMA.

1/8 era CT+/GC- quando rianalizzato nel test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS ed era CT+ nel test di amplificazione alternativa TMA.

² 1/1 era CT-/GC- quando rianalizzato nel test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS ed era GC- nel test di amplificazione alternativa TMA.

³ 1/1 era CT-/GC- quando rianalizzato nel test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS ed era CT+ nel test di amplificazione alternativa TMA.

Tabella 19: Studio di concordanza del campione clinico: risultati del campione di tampone vaginale

Sistema Tigris DTS	Sistemi DTS				Totale
	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
Totale	26	44	25	75	170
Percentuale concordanza (IC del 95%)	100% (86,8 – 100)	100% (92,0 – 100)	96,0% (79,6 – 99,9)	97,3% (90,7 – 99,7)	n/p
Concordanza percentuale complessiva (IC del 95%): 98,2% (94,9 – 99,6)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/p = non pertinente.

Tabella 20: Studio di concordanza del campione clinico: risultati del campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt

Sistema Tigris DTS	Sistemi DTS				Totale
	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
Totale	26	45	25	74	170
Percentuale concordanza (IC del 95%)	100% (86,8 – 100)	97,8% (88,2 – 99,9)	96,0% (79,6 – 99,9)	98,6% (92,7 – 100)	n/p
Concordanza percentuale complessiva (IC del 95%): 98,2% (94,9 – 99,6)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/p = non pertinente.

Tabella 21: Studio sulla concordanza del pannello clinico CT/GC: concordanza con i risultati CT e GC previsti per i pannelli di tampone endocervicale, tampone uretrale maschile e urina femminile e maschile

Elemento del pannello CT/GC	Concentrazione dell'elemento del pannello ¹		Replicati	CT		GC	
	CT IFU/ml	GC CFU/ml		Tigris % concor	DTS % concor	Tigris % concor	DTS % concor
Basso/Basso	2,5	125	20	100	100	100	100
Basso/Alto	2,5	125.000	20	100	95 ³	100	100
Alto/Basso	2.500	125	20	100	100	100	100
Alto/Alto	2.500	125.000	20	100	100	100	100
Molto basso/Neg	0,25 ²	0	20	85 ⁴	100	100	100
Basso/Neg	2,5	0	20	100	100	100	100
Medio/Neg	25	0	20	100	100	100	100
Alto/Neg	2.500	0	20	100	100	100	100
Neg/Molto basso	0	12,5	20	100	100	100	100
Neg/Basso	0	125	20	100	100	100	100
Neg/Medio	0	1.250	19	100	100	100	100
Neg/Alto	0	125.000	20	100	100	100	100
Neg/Neg	0	0	20	100	100	100	100

Concordanza percentuale complessiva tra Tigris e DTS (IC del 95%): 99,3% (98,3 – 99,8)

IFU = unità formanti inclusioni, CFU = unità formanti colonia, Tigris % concor = concordanza tra Tigris e risultati previsti, DTS % concor = concordanza tra DTS e risultati previsti.

¹ Una provetta di raccolta contiene circa 2,9 ml di terreno di trasporto per i campioni di tampone e 4,0 ml di terreno di trasporto/miscela di urina per i campioni di urina.

² La concentrazione di CT in questo elemento del pannello clinico CT/GC è inferiore di un log alla dichiarazione di sensibilità analitica del test Aptima Combo 2 assay di 1 IFU/test (7,25 IFU/tampone, 5 IFU/ml urina).

³ Uno dei 5 replicati del pannello di urina femminile era CT- sui sistemi DTS.

⁴ Tre dei 5 replicati del pannello di urina femminile erano CT- sul sistema Tigris.

Tabella 22: Studio sulla concordanza del pannello clinico CT/GC: risultati CT per i pannelli di tampone endocervicale e uretrale maschile e di urina femminile e maschile

Campione	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Concordanza positiva (IC del 95%)	Concordanza negativa (IC del 95%)
Tampone	129	80	0	0	49	100 (95,5 – 100)	100 (92,7 – 100)
Urina	130	76	3 ¹	1 ²	50	96,2 (89,3 – 99,2)	98,0 (89,6 – 100)

+ indica Positivo, - indica Negativo, IC = intervallo di confidenza.

¹ Tre dei 5 replicati del pannello di urina femminile, che erano inferiori di un log alla dichiarazione di sensibilità analitica del test Aptima Combo 2 assay di 1 IFU/test per CT, sono risultati CT- sul sistema Tigris.

² Uno dei 5 replicati del pannello di urina femminile era CT- sui sistemi DTS.

Tabella 23: Studio sulla concordanza del pannello clinico CT/GC: risultati GC per i pannelli di tampone endocervicale e uretrale maschile e di urina femminile e maschile

Campione	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Concordanza positiva (IC del 95%)	Concordanza negativa (IC del 95%)
Tampone	129	79	0	0	50	100 (95,4 – 100)	100 (92,9 – 100)
Urina	130	80	0	0	50	100 (95,5 – 100)	100 (92,9 – 100)

+ indica Positivo, - indica Negativo, IC = intervallo di confidenza, Tigris = Tigris DTS.

Studio sulla precisione

La precisione (ovvero la riproducibilità) del sistema Tigris DTS è stata valutata presso un centro clinico esterno e presso Hologic. La precisione del test Aptima Combo 2 assay è stata valutata su tre sistemi Tigris DTS, due centri di studio, due lotti di kit per test Aptima Combo 2 assay e quattro operatori. La Tabella 24 presenta i dati RLU di precisione in termini di media, deviazione standard, coefficiente di variazione (CV) e concordanza percentuale con i risultati previsti per i calcoli di variabilità tra diversi centri, tra diversi operatori, tra diversi lotti, tra diverse sessioni e nell'ambito di una stessa sessione.

Presso il centro esterno, due operatori hanno eseguito tre liste di lavoro (ovvero sessioni) per lotto di kit del test Aptima Combo 2 assay su un sistema Tigris DTS, completando un totale di 6 liste di lavoro ciascuno. Presso Hologic, due operatori hanno eseguito tre liste di lavoro per lotto di kit del test Aptima Combo 2 assay su ciascuno dei due sistemi Tigris DTS, completando un totale di 12 liste di lavoro ciascuno. Quindi, è stato completato un totale di 36 liste di lavoro complessive. Ciascuna lista di lavoro era composta da sei identici pannelli di precisione da 12 elementi, contenenti da 0 a 2.000 fg/test di CT rRNA e/o da 0 a 2.433 fg/test di GC rRNA. Ciascuna lista di lavoro era composta da sei identici pannelli di precisione da 12 elementi, contenenti da 0 a 2.000 fg/test di CT rRNA e/o da 0 a 5.000 fg/test di GC rRNA. Gli elementi del pannello contenenti CT e GC sono stati categorizzati come aventi concentrazioni basse (5 o 100 fg/test), medie (1000 fg/test) o alte (≥ 2000 fg/test) di CT e come aventi concentrazioni basse (≤ 250 fg/test), medie (circa 2400 fg/test) o alte (5000 fg/test) di GC. La riproducibilità è stata stabilita aggiungendo rRNA al terreno di trasporto del tampone. Non è stata determinata la riproducibilità nell'analisi di campioni di tampone e di urina contenenti organismo target. La precisione è stata determinata secondo le Linee guida NCCLS EP5-A (35).

Tabella 24: Dati sulla precisione del sistema Tigris DTS

Conc.					Durante la sessione		Tra centri diversi		Tra lotti diversi		Tra operatori diversi		Tra una sessione e l'altra	
CT	GC	N	Media RLU (x1000)	% Concor.	DS (RLU x1000)	CV (%)	DS (RLU x1000)	CV (%)	DS (RLU x1000)	CV (%)	DS (RLU x1000)	CV (%)	DS (RLU x1000)	CV (%)
Neg	Neg	647	4	100	1,25	26,2	0,66	13,9	0,05	1,0	0,08	1,7	0,30	6,4
Neg	Alta	215	1216	100	28,5	2,3	61,2	5,0	10,0	0,8	0	0	17,1	1,4
Alta	Neg	216	1.266	100	38,8	3,0	0	0	93,1	7,3	40,8	3,2	40,4	3,1
Alta	Alta	210	2445	100	54,2	2,2	40,0	1,6	110,3	4,5	28,4	1,1	52,3	2,1
Neg	Bassa ¹	217	1132	100	30,3	2,6	61,0	5,3	0	0,0	20,7	1,8	18,5	1,6
Bassa ¹	Neg	214	1053	100	72,8	6,9	1,5	0,1	73,8	7,0	28,5	2,7	26,9	2,5
Media	Media	214	2429	100	48,8	2,0	40,0	1,6	101,1	4,1	0	0	52,9	2,1
Bassa ¹	Bassa 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
Bassa ¹	Alta	216	2282	100	77,3	3,3	97,8	4,2	59,3	2,6	0	0	41,7	1,8
Alta	Bassa ¹	215	2318	100	61,1	2,6	50,7	2,1	86,2	3,7	4,6	0,2	42,4	1,8

DS = deviazione standard, %CV = coefficiente di variazione percentuale, % concor. = concordanza percentuale, Conc. = concentrazione.

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, cosa che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola. Quando questo si verifica, la variabilità misurata con deviazione standard e %CV viene impostata su 0. Consultare le Linee guida NCCLS approvate EP5-A (35).

¹ Gli elementi del pannello bassi sono stati arricchiti alle sensibilità analitiche dichiarate del test (5 fg CT rRNA/test, 250 fg GC rRNA/test o entrambi per l'elemento del pannello positivo doppio). Per CT, il livello target analizzato è l'equivalente di circa 36 fg/tampone e di 25 fg/ml di urina. Per GC, il livello target analizzato è l'equivalente di circa 1800 fg/tampone e di 1250 fg/ml di urina. In base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ciascun organismo, 5 fg è l'equivalente di 1 IFU CT e 250 fg è l'equivalente di 50 cellule di GC.

Prestazioni analitiche del sistema Tigris DTS

Consultare *Caratteristiche delle prestazioni analitiche del Panther System* per le prestazioni analitiche specifiche del Panther system.

Studio sull'equivalenza della sensibilità analitica

Diluizioni di tre serovar di CT (E, F, G) associati alla malattia urogenitale sono state analizzate su tre strumenti del sistema Tigris DTS e in parallelo sui sistemi DTS. I serovar di CT sono stati diluiti nel terreno di trasporto del tampone e in un pool di campioni di urina trattati. Le concentrazioni variavano da 3 Unità formanti inclusione (IFU) per test a 0,1 IFU per test, che è un log inferiore alla dichiarazione di sensibilità analitica per il test di un IFU per test (7,25 IFU/tampone, 5 IFU/ml di urina). La positività percentuale tra il sistema Tigris DTS e i sistemi DTS era equivalente a un intervallo di confidenza del 95% per tutti e tre i serovar fino al livello della dichiarazione analitica. Diluizioni al di sotto di quel livello hanno anch'esse fornito all'analisi risultati positivi su entrambe le piattaforme. Nel complesso, la sensibilità comparabile è stata dimostrata a un livello di rilevamento di un IFU per test tra il sistema Tigris DTS e i sistemi DTS.

Un pannello di sensibilità in pool di campioni vaginali e un pannello di sensibilità in pool di campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt post-trattamento sono stati preparati a CT 5 fg rRNA e 60 replicati sono stati analizzati sul sistema Tigris DTS. La positività percentuale (IC del 95%) sul sistema Tigris DTS per il campione di tampone vaginale è stata del 100% (95,1 – 100) e quella del campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt post-trattamento è stata del 100% (95,1 – 100).

La sensibilità analitica per la variante finlandese di *Chlamydia trachomatis* (FI-nvCT) è stata determinata analizzando diluizioni di trascrizione *in vitro* in campioni negativi di urina, campioni negativi da ThinPrep e campioni di matrice simulata di tampone. Trenta replicati di ciascuna diluizione sono stati analizzati sul sistema Tigris DTS con ognuno dei tre lotti di reagente del test Aptima Combo 2 assay in versione aggiornata, per un totale di 90 replicati per tipo di campione biologico. La sensibilità analitica è stata determinata come minore di una IFU per test in campioni di urina, ThinPrep e di matrice simulata di tampone. Le capacità di rilevamento del test Aptima Combo 2 assay in versione aggiornata sono state confermate su varianti CT multiple.

Le diluizioni di tre isolati clinici di GC sono state analizzate su tre sistemi Tigris DTS e in parallelo sui sistemi DTS. Gli isolati di GC sono stati diluiti nel terreno di trasporto del tampone e in un pool di campioni di urina trattati. Le concentrazioni variavano da 150 cellule per test a 5 cellule per test, che è di un log inferiore alla dichiarazione di sensibilità analitica per il test di 50 cellule/test (362 cellule/tampone, 250 cellule/ml di urina). La positività percentuale tra il sistema Tigris DTS e i sistemi DTS era equivalente a un intervallo di confidenza del 95% per tutti e tre gli isolati fino al livello della dichiarazione analitica. Diluizioni al di sotto di quel livello hanno anch'esse fornito all'analisi risultati positivi su entrambe le piattaforme. Nel complesso, la sensibilità comparabile è stata dimostrata a un livello di rilevamento di 50 cellule per test tra il sistema Tigris DTS e i sistemi DTS.

Un pannello di sensibilità in pool di campioni vaginali e un pannello di sensibilità in pool di campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt post-trattamento sono stati preparati a GC 250 fg rRNA e 60 replicati sono stati analizzati sul sistema Tigris DTS. La positività percentuale (IC del 95%) sul sistema Tigris DTS per il campione di tampone vaginale è stata del 100% (95,1 – 100) e quella del campione per Pap test raccolto in liquido PreservCyt post-trattamento è stata del 100% (95,1 – 100).

Studio sul pannello clinico arricchito di CT/GC rRNA – Campioni di tampone vaginale e campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt

Lo studio sul pannello clinico arricchito di CT/GC rRNA valutava la concordanza tra i due sistemi utilizzando due pannelli clinici CT/GC preparati da Hologic, addizionati di una quantità da 0 a 5000 fg rRNA/test di CT e/o da 0 a 250.000 fg rRNA/test di GC. I pannelli clinici CT/GC sono stati creati partendo da campioni di tampone vaginale e campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt prelevati da 309 pazienti di sesso femminile i cui campioni avevano dato risultati negativi al test Aptima Combo 2 assay sui sistemi DTS quando analizzati presso Hologic. I campioni negativi sono stati raggruppati in base al tipo di campione, arricchiti o non arricchiti di CT rRNA e/o GC rRNA, e aliquotati come replicati di ciascun elemento del pannello. Replicati di ciascuno dei 13 elementi del pannello con diversi livelli di rRNA arricchito sono stati combinati per creare un pannello clinico per ciascun tipo di campione. Ciascun pannello conteneva un totale di 132 replicati.

Un replicato di tampone vaginale proveniente dall'elemento del pannello a concentrazione CT molto bassa (0,05 fg rRNA/test) ha avuto un risultato CT dubbio sui sistemi DTS.

La Tabella 25 mostra le concordanze percentuali per ciascun livello di rRNA nei pannelli di tampone vaginale e per Pap test raccolto in liquido PreservCyt, rispettivamente, con i risultati CT e GC previsti per il sistema Tigris DTS e per i sistemi DTS. Le concentrazioni variavano da 1 log al di sotto a 3 log al di sopra dei 5 fg rRNA/test per CT e dei 250 fg rRNA/test per GC. Sempre nella Tabella 25 sono indicate le concordanze percentuali complessive (99,2% per il pannello di tampone vaginale e 100% per il pannello di Pap test raccolto in liquido PreservCyt).

Tabella 25: Studio sulla concordanza del pannello clinico arricchito di CT/GC rRNA: concordanza con i risultati CT e GC attesi per il pannello di tampone vaginale e il pannello di Pap test raccolto in liquido PreservCyt

Elemento del pannello CT/GC	Concentrazione (fg rRNA/test)		Replicati	Pannello di tampone vaginale				Pannello di Pap test raccolto in liquido PreservCyt			
				CT		GC		CT		GC	
	CT	GC		Tigris	DTS	Tigris	DTS	Tigris	DTS	Tigris	DTS
				% concor	% concor	% concor	% concor	% concor	% concor	% concor	% concor
Basso/Basso	5	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Basso/Alto	5	250.000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Alto/Basso	5000	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Alto/Alto	5000	250.000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Molto basso/Neg	0,5	0	10	100	88,9 ¹	100	100	100	100	100	100
Basso/Neg	5	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Medio/Neg	50	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Alto/Neg	5000	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Molto basso	0	25	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Basso	0	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Medio	0	2500	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Alto	0	250.000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Neg	0	0	12	100	100	100	100	100	100	100	100
				Concordanza percentuale complessiva tra Tigris e DTS (IC del 95%):				Concordanza percentuale complessiva tra Tigris e DTS (IC del 95%):			
				99,2% (95,8 – 100)				100% (97,2 – 100)			

DTS % concor = concordanza tra DTS e risultati previsti, Tigris % concor = concordanza tra Tigris DTS e risultati previsti.

¹ 1/10 replicati aveva risultati CT dubbi sui sistemi DTS ed è stato escluso da questa analisi. 8/9 concordavano con i risultati previsti. 1/9 era CT- sui sistemi DTS. La concentrazione CT di questo elemento del pannello è di 1 log inferiore a 5 fg rRNA/test.

Studio sull'equivalenza della specificità analitica

Per un test di amplificazione degli acidi nucleici, la specificità analitica rispetto agli organismi individuali è largamente determinata dalla chimica del test (ad es. le sequenze oligonucleotidiche) anziché dalla piattaforma. Poiché i reagenti per il test Aptima Combo 2 assay sono identici tra il sistema Tigris DTS e i sistemi DTS, gli esperimenti di specificità analitica sul sistema Tigris DTS sono stati ideati per concentrarsi sugli isolati di coltura più problematici. Questi organismi includevano alcuni noti per la loro reattività incrociata in altri test di amplificazione. Ventiquattro (24) isolati di coltura sono stati selezionati dal pannello di organismi della Tabella 15, inclusi 3 organismi che sono strettamente correlati alla CT e 17 organismi che sono strettamente correlati alla GC. Tutti gli organismi analizzati hanno fornito risultati negativi sul sistema Tigris DTS.

Studio sull'equivalenza delle sostanze interferenti

Il sangue incontrato comunemente nei campioni urogenitali potrebbe interferire in alcuni test di amplificazione. Sangue intero è stato utilizzato per stabilire il livello dell'interferenza del sangue sul sistema Tigris DTS e l'equivalenza tra il sistema Tigris DTS e i sistemi DTS per quanto riguarda questa potenziale sostanza interferente. Sangue fresco è stato aggiunto a pool clinici di campioni di tampone, tampone vaginale, campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt post-trattamento e di urina, poi analizzato per la potenziale interferenza al test in assenza e in presenza di CT e GC target. Sono stati utilizzati gli equivalenti stimati di rRNA di una CT IFU/test (5 fg/test) e di 50 GC cellule/test (250 fg/test) in quanto rappresentano la sensibilità analitica del test. Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ciascun organismo. I campioni sono stati analizzati su due sistemi Tigris DTS. Tutti i campioni contenenti acido nucleico target sono risultati positivi quando analizzati a un livello del 10% (vol/vol) di sangue nei campioni di tampone, nei campioni di tampone vaginale e nei campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt post-trattamento, nonché del 30% (vol/vol) di sangue nei campioni di urina. Tutti i campioni che non contenevano target sono stati identificati correttamente come negativi sia per CT sia per GC. Questi risultati sono identici a quelli dimostrati per i sistemi DTS quando arricchiti delle stesse quantità di sangue.

Il sangue aggiunto a campioni di tampone, di tampone vaginale, per Pap test raccolti in liquido PreservCyt post-trattamento e campioni di urina a livelli molto superiori a quelli che si potrebbero prevedere con una normale raccolta di campioni non ha interferito con i risultati del sistema Tigris DTS.

Studi sulla contaminazione crociata per il sistema Tigris DTS

Per stabilire che il sistema Tigris DTS riduce al minimo il rischio di risultati falsi positivi derivanti dalla contaminazione crociata, è stato condotto uno studio analitico di più giorni utilizzando pannelli arricchiti su tre sistemi Tigris DTS. Lo studio ha impiegato un 20% di campioni GC ad alto target contenenti $1,0 \times 10^9$ cellule/reazione, che sono stati collocati a caso tra un 80% di campioni negativi contenenti terreno di trasporto del tampone. Nel corso dello studio, 1372 campioni ad alto target e 5516 campioni negativi sono stati analizzati sui tre sistemi Tigris DTS. Il tasso complessivo di contaminazione crociata, comprendente sia i falsi positivi sia i risultati dubbi, ha fornito una media dello 0,3% (18/5491). Un totale di 25 campioni negativi è stato riportato come non valido ed è stato escluso dal calcolo. Un'analisi separata è stata condotta su un sottogruppo della popolazione dello studio composta dai campioni negativi che seguivano immediatamente un positivo ad alto target. Il tasso di contaminazione crociata per questo sottogruppo della popolazione, comprendente sia i falsi positivi sia i risultati dubbi, ha fornito una media dell'1,1% (12/1097). Per i falsi positivi in questo sottogruppo, il tasso di contaminazione crociata variava dallo 0% all'1,1% su tutti e tre i sistemi Tigris DTS. Per i risultati dubbi in questo sottogruppo, il tasso di contaminazione crociata variava dallo 0% allo 0,9% su tutti e tre i sistemi Tigris DTS. Questi risultati dimostrano che la contaminazione crociata viene ridotta al minimo sul sistema Tigris DTS.

Prestazioni analitiche del Panther System

Studio sulla concordanza del pannello clinico arricchito

Singoli campioni di urina negativi sono stati addizionati di serovar G di CT, GC o di una combinazione di CT e GC per creare un pannello di 120 CT positivi, 120 GC positivi e 120 elementi del pannello positivi doppi. Gli elementi del pannello CT positivi sono stati arricchiti con organismi a 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml o 25 IFU/ml (0,5 fg/test, 5 fg/test o 50 fg/test). Gli elementi del pannello GC positivi sono stati arricchiti con organismi a 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml o 1250 CFU/ml (25 fg/test, 250 fg/test o 2500 fg/test). I componenti positivi doppi sono stati arricchiti con organismi CT a 2,5 IFU/ml (5 fg/test) e organismi GC a 2.500.000 CFU/ml (5.000.000 fg/test) o CT a 25 IFU/ml (50 fg/test) e GC a 1250 CFU/ml (2500 fg/test) o CT a 25.000 IFU/ml (50.000 fg/test) e GC a 125 CFU/ml (250 fg/test) o CT a 2,5 IFU/ml (5 fg/test) e GC a 125 CFU/ml (250 fg/test). Sono stati inoltre raccolti 120 campioni di urina negativi per CT e GC. I pannelli positivi e negativi sono stati analizzati su tre Panther System e su tre sistemi Tigris DTS. La concordanza percentuale positiva tra il Panther system e il sistema Tigris DTS è risultata del 100% con un limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% di 99,5 per CT e GC. La concordanza percentuale negativa tra il Panther system e i sistemi Tigris DTS è risultata del 99,9% con un limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% di 99,5. I risultati dello studio sono illustrati nella Tabella 26.

Tabella 26: Studio sulla concordanza del pannello clinico arricchito: concordanza con i risultati CT e GC previsti

Elemento del pannello	Concentrazione (IFU o CFU/ml)		Concentrazione (fg/test)		Replicati	CT		GC	
	CT	GC	CT	GC		Tigris % concor	Panther % concor	Tigris % concor	Panther % concor
Pannelli CT/GC^{1,2}									
Basso/Basso	2,5	125	5	250	90	100	100	100	100
Medio/Medio	25	1.250	50	2.500	90	100	100	100	100
Basso/Alto	2,5	2.500.000	5	5.000.000	90	100	100	100	100
Alto/Basso	25.000	125	50.000	250	90	100	100	100	100
Pannelli GC^{2,3}									
Neg/Molto basso	0	12,5	0	25	117*	100	100	100	100
Neg/Basso	0	125	0	250	120	100	100	100	100
Neg/Medio	0	1.250	0	2.500	120	100	99,2	100	100
Pannelli CT^{1,3}									
Molto basso/Neg	0,25	0	0,5	0	120	100	100	100	100
Basso/Neg	2,5	0	5	0	120	100	100	100	100
Medio/Neg	25	0	50	0	120	100	100	100	100
Pannelli negativi³									
Neg/Neg	0	0	0	0	360	100	100	99,7	99,7

* Un elemento del pannello è stato prodotto in modo errato e, pertanto, escluso dall'analisi.

¹ Concordanza percentuale positiva CT complessiva tra Tigris e DTS (IC del 95%): 100% (99,5 – 100).

² Concordanza percentuale positiva GC complessiva tra Tigris e DTS (IC del 95%): 100% (99,5 – 100).

³ Concordanza percentuale negativa complessiva tra Tigris e DTS (IC del 95%): 99,9% (99,5 – 100).

Lo studio sulla concordanza del pannello clinico ha valutato l'equivalenza tra la versione originale e quella aggiornata del test Aptima Combo 2 assay, utilizzando 20 pannelli clinici CT/GC preparati, contenenti da 0 a 2.500 IFU/ml di CT da ceppi selvatici, da 0 a 500 IFU/ml di FI-nvCT e da 0 a 125.000 CFU/ml di GC in campioni di urina. Ciascuno dei 20 pannelli è stato analizzato in triplicato in due sessioni analitiche al giorno su tre Panther system, da due operatori che hanno utilizzato tre lotti di reagenti in sei giorni. La Tabella 27 mostra le concordanze percentuali rispetto ai risultati attesi di CT e GC per le due versioni del test Aptima Combo 2 assay.

Tabella 27: Studio sulla concordanza del pannello clinico CT/GC con test Aptima Combo 2 Assay, versione originale e aggiornata

Concentrazione dell'elemento del pannello			CT				GC			
CT IFU/mL	FI-nvCT IFU/mL*	GC CFU/mL	Originale AC2 Risultato atteso	Originale %AC2 Concordanza	Aggiornato AC2 Risultato atteso	Aggiornato Concordanza %AC2	Originale AC2 Risultato atteso	Originale %AC2 Concordanza	Aggiornato AC2 Risultato atteso	Aggiornato Concordanza %AC2
0	0	0	Neg	100%	Neg	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0	12,5	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0	125	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0	1.250	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0	125.000	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0,25	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
2,5	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
25	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
2.500	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0,02	0	Neg	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0,05	0	Neg	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0,2	0	Neg	98,2%	Pos	100%	Neg	99,1%	Neg	100%
0	500	0	Neg	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
2,5	0	125	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
25	0	1.250	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
2.500	0	125	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
2,5	0	125.000	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	500	125	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0,05	125.000	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
2.500	500	125	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%

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

Studio sullo sensibilità analitica

La sensibilità analitica del test Aptima Combo 2 assay è stata analizzata utilizzando tre matrici di campioni rappresentativi. I campioni in questione erano di urina trattata con terreno di trasporto dell'urina (UTM), soluzione PreservCyt per Pap test diluita con terreno di trasporto del tampone (STM) e STM. Raggruppamenti delle suddette tre matrici sono stati arricchiti con CT e GC rRNA alle seguenti concentrazioni all'equivalente di RNA di 0,5 fg/test, 5 fg/test e 50 fg/test (equivalenti di rRNA di 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml o 25 IFU/ml) per CT o di 25 fg/test, 250 fg/test o 2500 fg/test per GC (equivalenti di rRNA di 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml o 1250 CFU/ml). Gli equivalenti di rRNA sono stati calcolati in base alle dimensioni del genoma e al rapporto stimato DNA:RNA/cellula di ciascun organismo. I pannelli sono stati analizzati su tre Panther system utilizzando tre lotti di reagenti in replicati di 96. È stata calcolata la concordanza con i risultati previsti. La concordanza con i risultati attesi è stata del 100% (IC del 95%, 96,1 – 100%) per tutti i pannelli di urina, del 100% (IC del 95%, 96,0 – 100%) per tutti i pannelli di campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e del 100% (IC del 95%, 96,1 – 100%) per tutti i pannelli di STM. La sensibilità analitica per il test è risultata di 2,5 IFU/ml per CT e 125 CFU/ml per GC.

La sensibilità analitica per la variante FI-nvCT è stata determinata analizzando diluizioni di trascrizione *in vitro* in campioni negativi di urina, campioni negativi da ThinPrep e campioni di matrice simulata di tampone. Trenta replicati di ciascuna diluizione sono stati analizzati sul Panther System con ognuno dei tre lotti di reagente del test Aptima Combo 2 Assay in versione aggiornata, per un totale di 90 replicati per tipo di campione biologico. La sensibilità analitica è stata determinata come minore di una IFU per test in campioni di urina, ThinPrep e di matrice simulata di tampone. Le capacità di rilevamento del test Aptima Combo 2 Assay in versione aggiornata sono state confermate su varianti CT multiple.

Studio sulla riproducibilità

La precisione del test Aptima Combo 2 assay è stata valutata su tre Panther system e tre lotti di kit del test Aptima Combo 2 assay in un periodo di 24 giorni. I pannelli sono stati creati aggiungendo CT e/o GC rRNA al terreno di trasporto del tampone (STM) nelle concentrazioni elencate nella Tabella 28. Gli operatori hanno eseguito due sessioni al giorno analizzando per ciascun elemento del pannello due replicati per sessione. È stata calcolata la concordanza con i risultati previsti ed è stata stimata la precisione secondo le Linee guida NCCLS, documento EP5-A2 (37). Per ciascun pannello è stato utilizzato un totale di 96 replicati. La Tabella 28 presenta i dati RLU di precisione in termini di media, deviazione standard, coefficiente di variazione (CV), concordanza percentuale con i risultati previsti e i calcoli di variabilità tra diversi strumenti, diversi lotti, diverse sessioni e nell'ambito della stessa sessione, nonché la variabilità totale.

Tabella 28: Precisione del Panther per il test Aptima Combo 2 Assay

Matrice	CT (IFU/ml)	GC (CFU/ml)	N*	Media RLU (x1000)	% Concor.	Tra strumenti diversi		Tra lotti diversi		Tra una sessione e l'altra		Durante la sessione		Totale	
						DS	CV	DS	CV	DS	CV	DS	CV	DS	CV
						(x1000)	(%)	(x1000)	(%)	(x1000)	(%)	(x1000)	(%)	(x1000)	(%)
STM	0	0	96	6	100	0,06	1	0,88	13,5	0	0	1,02	15,7	1,3	20,1
	0,25	0	95	1226	100	70,03	5,7	20,03	1,6	8,43	0,7	47,05	3,8	87,1	7,1
	2,5	0	96	1249	100	77,97	6,2	6,11	0,5	0	0	32,87	2,6	84,8	6,8
	25	0	95	1268	100	72,85	5,7	15,3	1,2	0	0	39,58	3,1	84,3	6,6
	0	12,5	96	1081	100	18,44	1,7	28,59	2,6	0	0	26,68	2,5	43,2	4
	0	125	96	1.266	100	29,81	2,4	0	0	8,86	0,7	27,58	2,2	41,6	3,3
	0	1250	96	1309	100	29,41	2,2	0	0	9,83	0,8	31,83	2,4	44,4	3,4
	2,5	125	96	2456	100	86,58	3,5	0	0	0	0	52,99	2,2	101,5	4,1
	2,5	2500	96	2509	100	73,13	2,9	0	0	19,8	0,8	46,77	1,9	89	3,5
	1000	2500	96	2496	100	31,72	1,3	6,14	0,2	0	0	193,66	7,8	196,3	7,9
Urina	0	0	94	6	100	0,2	3,2	0,66	10,8	0,36	5,9	1	16,3	1,3	21,2
	0,25	0	95	863	100	70,73	8,2	165,65	19,2	47,97	5,6	132,27	15,3	228,6	26,5
	2,5	0	95	1129	100	56,02	5	89,56	7,9	8,56	0,8	74,19	6,6	129,4	11,5
	25	0	96	1246	100	60,45	4,9	13,97	1,1	13,36	1,1	43,03	3,5	76,7	6,2
	0	12,5	96	1016	100	18,83	1,9	31,81	3,1	7,88	0,8	49,53	4,9	62,3	6,1
	0	125	96	1209	100	49,32	4,1	23,5	1,9	1,68	0,1	40,28	3,3	67,9	5,6
	0	1250	96	1252	100	53,01	4,2	40,34	3,2	7,72	0,6	40,23	3,2	78,2	6,2
	2,5	125	95	2290	100	73,92	3,2	40,88	1,8	10,43	0,5	56,12	2,5	101,9	4,4
PreservCyt	0	0	96	7	100	0	0	0,8	11,7	0	0	1,54	22,4	1,7	24,7
	0,25	0	96	1113	100	92,29	8,3	30,08	2,7	0	0	63,57	5,7	116	10,4
	2,5	0	96	1194	100	62,54	5,2	24,83	2,1	0	0	47,01	3,9	82,1	6,9
	25	0	95	1222	100	65,14	5,3	26,36	2,2	14,67	1,2	34,97	2,9	79,8	6,5
	0	12,5	93	994	100	33,28	3,3	36,92	3,7	15,97	1,6	26,15	2,6	58,4	5,9
	0	125	95	1189	100	40,1	3,4	4,45	0,4	10,87	0,9	21,44	1,8	47	4
	0	1250	95	1239	100	37,69	3	7,47	0,6	13,61	1,1	18,04	1,5	44,6	3,6
	2,5	125	95	2333	100	99,68	4,3	35,27	1,5	12,61	0,5	48,86	2,1	117,2	5

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

* Numero totale di replicati per pannello = 96. Nelle sessioni selezionate, i singoli replicati non validi non sono stati rianalizzati.

Studio sulla specificità analitica

La specificità analitica del test Aptima Combo 2 assay versione aggiornata è stata valutata utilizzando un sottogruppo di microorganismi elencati nella Tabella 15 e nella Tabella 16. Gli 86 microorganismi analizzati erano costituiti principalmente da ceppi virali, batterici e di lieviti. Nessuno dei microorganismi analizzati ha dimostrato di poter influire sulle prestazioni o sulla specificità analitica del test Aptima Combo 2 assay versione aggiornata.

Studio sull'equivalenza delle sostanze interferenti

Il sangue incontrato comunemente nei campioni urogenitali potrebbe interferire in alcuni test di amplificazione. Sangue intero è stato utilizzato per stabilire il livello di interferenza del sangue sul Panther system per quanto riguarda le potenziali sostanze interferenti. Sangue fresco è stato aggiunto ai pool clinici di campioni di tampone vaginale, campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt post-trattamento o urina, quindi analizzato relativamente alla

potenziale interferenza al test in presenza e in assenza di CT e GC target. Gli equivalenti stimati di rRNA di 1 IFU CT/test (5 fg/test) e di 50 GC cellule/test (250 fg/test) sono stati utilizzati come concentrazioni target in quanto rappresentano la sensibilità analitica del test. I campioni sono stati analizzati sul Panther system. Tutti i campioni contenenti acido nucleico target sono risultati positivi quando analizzati a un livello del 10% (vol/vol) di sangue nei campioni di tampone o campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt, e del 30% (vol/vol) di sangue nei campioni di urina. Tutti i campioni che non contenevano target sono stati identificati correttamente come negativi sia per CT sia per GC. Questi risultati sono identici a quelli dimostrati per il sistema Tigris DTS quando arricchiti delle stesse quantità di sangue. Il sangue aggiunto ai campioni di tampone, campioni per Pap test raccolti in liquido PreservCyt e urina a livelli molto superiori a quelli che ci si potrebbe attendere con una normale raccolta di campioni non ha interferito con i risultati del Panther system.

Studi sulla contaminazione crociata per il Panther System

Per stabilire che il Panther system riduce al minimo il rischio di risultati falsi positivi derivanti dalla contaminazione crociata, è stato condotto uno studio analitico di più sessioni utilizzando pannelli arricchiti su tre Panther system. La contaminazione crociata è stata valutata utilizzando circa il 20% di campioni GC ad alto titolo frammisti a campioni negativi. Nelle sessioni sono stati inclusi raggruppamenti di campioni altamente positivi e raggruppamenti di campioni negativi, nonché singoli campioni altamente positivi collocati secondo uno schema specifico nell'ambito della sessione. I campioni ad alto titolo sono stati creati arricchendo GC rRNA nel terreno di trasporto del tampone (STM) allo scopo di ottenere una concentrazione finale di 5×10^5 fg rRNA/reazione (equivalente di rRNA di $2,5 \times 10^5$ CFU/ml). La valutazione è stata effettuata eseguendo 5 sessioni su ciascuno dei tre Panther system con un totale di 2.936 campioni negativi. Il tasso di contaminazione crociata totale è risultato dello 0% con un intervallo di confidenza al 95% di 0 – 0,1%. Un totale di quattro campioni negativi è stato riportato come non valido ed è stato escluso dal calcolo.

Studio sulla concordanza del campione clinico

La concordanza del campione clinico tra la versione originale e quella aggiornata del test Aptima Combo 2 assay è stata valutata utilizzando campioni residui di tampone raccolti da pazienti sottoposti a screening per *Chlamydia trachomatis* (CT) e/o *Neisseria gonorrhoeae* (GC). Un singolo replicato di ciascun campione è stato analizzato su un Panther system con il test Aptima Combo 2 assay versione originale e versione aggiornata. La Tabella 29 e la Tabella 30 mostrano la concordanza percentuale CT e GC positiva, negativa e complessiva per i 325 campioni analizzati.

Tabella 29: Studio sulla concordanza del campione clinico di *Chlamydia trachomatis*

		Test AC2 Assay versione originale	
		CT Positivo	CT Negativo
Test AC2 Assay versione aggiornata	CT Positivo	49	3
	CT Negativo	0	273
Concordanza percentuale positiva (IC del 95%): 100% (92,7% – 100%)			
Concordanza percentuale negativa (IC del 95%): 98,9% (96,9% – 99,6%)			
Concordanza percentuale complessiva (IC del 95%): 99,1% (97,3% – 99,7%)			

Tabella 30: Studio sulla concordanza del campione clinico di *Neisseria gonorrhoeae*

		Test AC2 Assay versione originale	
		GC Positivo	GC Negativo
Test AC2 Assay versione aggiornata	GC Positivo	47	1
	GC Negativo	0	275
Concordanza percentuale positiva (IC del 95%): 100% (92,4% – 100%)			
Concordanza percentuale negativa (IC del 95%): 99,6% (98,0% – 99,9%)			
Concordanza percentuale complessiva (IC del 95%): 99,7% (98,3% – 99,9%)			

Sono stati esclusi dall'analisi due campioni con risultati equivoci per GC.

Tipi di campioni non genitali (campioni di tampone faringeo e rettale)

Riepilogo

Complessivamente, i dati analitici e clinici forniti di seguito supportano l'utilizzo del test Aptima Combo 2 Assay per l'analisi di campioni di tampone rettale e faringeo relativamente al rilevamento qualitativo e alla differenziazione dell'RNA ribosomiale (rRNA) da *Chlamydia trachomatis* (CT) e/o *Neisseria gonorrhoeae* (GC) come ausilio nella diagnosi di malattie clamidiali e/o gonococciche.

Studio sulla sensibilità analitica

Il limite di rilevamento del 95% per i tamponi non genitali con il test Aptima Combo 2 Assay è stato determinato per tamponi faringei e rettali. Due serovar di CT (E e G) e due isolati clinici di GC sono stati arricchiti nei pool di tali tamponi. I pannelli sono stati analizzati su due Panther systems utilizzando un lotto di reagente in replicati di almeno 20 nell'arco di otto giorni.

Il limite di rilevamento del 95% per tamponi faringei è pari a 0,005 IFU/ml (IC 95% 0,003 – 0,020) per CT e 0,10 CFU/ml (IC 95% 0,09 – 0,13) per GC. Il limite di rilevamento del 95% per tamponi rettali è pari a 0,007 IFU/ml (IC 95% 0,005 – 0,023) per CT e 0,10 CFU/ml (IC 95% 0,09 – 0,12) per GC.

Dati sulle prestazioni cliniche

I dati sulle prestazioni cliniche sono stati valutati da 15 articoli scientifici (1, 2, 3, 13, 16, 19, 21, 31, 34, 38, 39, 48, 49, 52, 53), ciascuno dei quali riportava l'utilizzo del test Aptima Combo 2 Assay nell'analisi di campioni non genitali.

Per i campioni di tampone faringeo CT, gli studi hanno riportato stime del 100% per la sensibilità e del 100% per la specificità (38). Per i campioni di tampone rettale CT, gli studi hanno riportato una sensibilità stimata tra il 71% e il 100% e una specificità stimata tra il 95,6% e il 100% (1, 2, 3, 13, 34, 38).

Per i campioni di tampone faringeo GC, gli studi hanno riportato una sensibilità stimata tra l'88,2% e il 100% e una specificità stimata tra l'87,8% e il 100% (2, 38). Per i campioni di tampone rettale GC, gli studi hanno riportato una sensibilità stimata tra il 75% e il 100% e una specificità stimata tra l'87,9% e il 100% (3, 13, 21, 34, 38, 48).

Reattività crociata di microrganismi

Per un elenco di microrganismi analizzati per la reattività crociata nei tamponi faringei e rettali, consultare la Tabella 16.

Sostanze potenzialmente interferenti

Le sostanze potenzialmente interferenti che potrebbero essere rilevate su tamponi non genitali sono state arricchite singolarmente con STM: farmaci per herpes, burro di cacao, crema per le emorroidi, feci umane, calmanti per la tosse, dentifrici, collutori, supposte lassative, farmaci antidiarroici e antiacidi. Tutte sono state testate per una potenziale interferenza con il test in assenza e in presenza di CT e GC a 3X del limite di rilevamento del 95% del tipo di campione. I campioni arricchiti con CT e GC mostravano almeno una positività del 95% in presenza di tali sostanze. Le sostanze non arricchite con CT o GC non hanno fornito un risultato positivo per CT o GC.

Manipolazione e stabilità del campione

I dati a sostegno delle condizioni di conservazione raccomandate per i campioni di tampone non genitali sono stati generati con campioni di tamponi negativi raggruppati. I pool faringeo e rettale sono stati arricchiti con CT e GC a concentrazioni di 2X del limite di rilevamento del 95% per ciascun tipo di campione di tampone. I campioni arricchiti sono stati tenuti a -70 °C, -20 °C, 4 °C e 30 °C. I campioni sono stati analizzati nei giorni 0, 8, 15, 23, 36 e 60. Tutte le condizioni di analisi sono risultate positive almeno al 95% sia per CT sia per GC in tutti i momenti e a tutte le temperature.

Bibliografia

1. **Alexander S et al.** 2007. *Confirming the Chlamydia trachomatis status of referred rectal specimens.* Sex Transm Infect. Jul 83(4):327-9. Epub 2007 May 2.
2. **Alexander S et al.** 2008. Self-taken pharyngeal and rectal swabs are appropriate for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in asymptomatic men who have sex with men. Sex Transm Infect. Nov 84(6):488-92.
3. **Bachmann LH et al.** 2010. Nucleic Acid Amplification Tests for Diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* Rectal Infections. J. Clin. Microbiol. 48(5):1827.
4. **Beem, M. O., and E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. NEJM 296:306-310.
5. **Berger R, Alexander E, Harnisch J et al.** 1979. Etiology, manifestations and therapy of acute epididymitis: prospective study of 50 cases. J Urol, 121(6), 750-754.
6. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, 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.
7. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. Am. J. Obstet. Gynecol. 164:1771-1781.
8. **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).
9. **Centers for Disease Control and Prevention.** *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2018.* Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services; 2019. DOI: 10.15620/cdc.79370.
10. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano, 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.
11. **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.
12. **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.
13. **Cosentino LA et al.** 2012. Use of nucleic acid amplification testing for diagnosis of anorectal sexually transmitted infections. J Clin Microbiol. Jun 50(6): 2005-2008.
14. **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.
15. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. 37:386-390.
16. **Freeman AH et al.** 2011. Evaluation of self-collected versus clinician-collected swabs for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* pharyngeal infection among men who have sex with men. Sex Transm Dis. Nov 38(11):1036-1039.
17. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. Journal of Pediatrics 95:28-32.
18. **Gaydos, C. A., T.C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, 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.
19. **Geiger R et al.** 2016. Investigation of the GeneXpertCT/NG assay for use with male pharyngeal and rectal swabs. Int J STD AIDS. August.
20. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, 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.
21. **Harryman L et al.** 2012. Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of *Neisseria gonorrhoeae* from genital and extragenital sites: a retrospective study. Sex Transm Infect. Feb 88(1):27-31.
22. **Hokynar K, et al.** The Finnish New Variant of *Chlamydia trachomatis* with a Single Nucleotide Polymorphism in the 23S rRNA Target Escapes Detection by the Aptima Combo 2 Test. Microorganisms 2019, 7(8), 227. <https://www.mdpi.com/2076-2607/7/8/227/htm>.
23. **Holmes, K. K., G. W. Counts, and H. N. Beatz.** 1971. Disseminated Gonococcal infection. Ann. of Intern. Med. 74:979-993.
24. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander.** 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. NEJM 292:1199-1205.
25. **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.
26. **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.

27. **Johansen TB, et al.** The 'Finnish new variant of Chlamydia trachomatis' escaping detection in the Aptima Combo 2 Assay is widespread across Norway, June to August 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(42):pii=1900592. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.42.1900592>.
28. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. *J. Clin. Microbiol.* 4:288-295.
29. **Lanjouw E, et al.** *Int J STD AIDS.* 2015. 2015 European guideline on the management of *Chlamydia trachomatis* infections. <https://www.iusti.org/regions/Europe/pdf/2015/Chlamydia2015.pdf>.
30. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors, 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.
31. **Mahto M., Mallinson H.** 2012. Response to 'Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of *Neisseria gonorrhoeae* from genital and extragenital sites: a retrospective study. *Sex Transm Infect.* Apr; 88(3):211.
32. **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.
33. **McCurdy, Brenda W.** 1997. *Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory.* February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
34. **Moncada J et al.** 2009. Evaluation of self-collected glans and rectal swabs from men who have sex with men for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by use of nucleic acid amplification tests. *J Clin Microbiol.* Jun 47(6): 1657-62.
35. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
36. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
37. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).
38. **Ota KV et al.** 2009. Detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in pharyngeal and rectal specimens using the BD Probetec ET system, the Hologic Aptima Combo 2 Assay and culture. *Sex Transm Infect.* Jun 85(3):182-6.
39. **Papp JR et al.** 2007. The use and performance of oral-throat rinses to detect pharyngeal *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Nov 59(3):259-264. Epub 2007 Jul 26.
40. **Papp JR, Schachter J, Gaydos CA, et al.** Recommendations for the laboratory-based detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae-2014. *MMWR Recomm Rep.* 2014;63:1-19. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047970>.
41. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test, *J. Clin. Microbiol.* 35:957-959.
42. **Rantakokko-Jalava et al.** Chlamydia trachomatis samples testing falsely negative in the Aptima Combo 2 test in Finland, 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(22):pii=1900298. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.22.1900298>.
43. **Roberts DJ, et al.** Prevalence of new variants of Chlamydia trachomatis escaping detection by the Aptima Combo 2 Assay, England, June to August 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(38):pii=1900557. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.38.1900557>.
44. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
45. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* 32:45-61.
46. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* 298:540-549.
47. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 123:753-757.
48. **Schachter J et al.** 2008. Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of chlamydial and gonococcal infections of the oropharynx and rectum in men who have sex with men. *Sex Transm Dis.* Jul 35(7):637-642.
49. **Sexton ME et al.** 2013. How reliable is self-testing for gonorrhea and chlamydia among men who have sex with men? *J Fam Pract.* Feb 62(2):70-78.
50. **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.
51. **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.
52. **Turner AN et al.** HIV, rectal chlamydia, and rectal gonorrhoeae in men who have sex with men attending a sexually transmitted disease clinic in a Midwestern US city. *Sex Transm Dis.* Jun 40(6):433-438.
53. **Turra M et al.** 2015. Detection and Confirmation of *Neisseria gonorrhoeae* Infections in Genital and Extragenital Samples using Aptima Assays on the Panther™ Instrument. *Microbiol Pathol.* 1(2): 018.
54. **Unemo and Clarke.** The Swedish new variant of Chlamydia trachomatis. *Curr Opin Infect Dis.* 2011 Feb;24(1):62-9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21157332>.

55. **Unemo M, et al.** Letter to the editor: Chlamydia trachomatis samples testing falsely negative in the Aptima Combo 2 test in Finland, 2019. Euro Surveill. 2019;24(24):pii=1900354. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.24.1900354>.
56. **Unemo M, et al.** Finnish new variant of Chlamydia trachomatis escaping detection in the Aptima Combo 2 Assay also present in Örebro County, Sweden, May 2019. Euro Surveill. 2019;24(26):pii=1900370. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.26.1900370>.
57. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, 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.
58. **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.
59. **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



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

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

Per altre informazioni di contatto, visitare il sito www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, ThinPrep, and Tigris are trademarks of Hologic, Inc. and/or its subsidiaries in the United States and/or other countries.

ependorf (stilizzato) e REPEATER sono marchi commerciali di Eppendorf AG.
TECAN e FREEDOM EVO sono marchi commerciali di Tecan Group AG.

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

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti statunitensi identificati nel sito www.hologic.com/patents.

© 2001-2020 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-19693-701 Rev. 001
2020-04