

Test Aptima™ Neisseria gonorrhoeae

Návod k použití

K diagnostickému použití *in vitro*

Pouze pro export z USA

Obecné informace	2
Určené použití	2
Shrnutí a vysvětlení testu	2
Principy postupu	3
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci	3
Varování a bezpečnostní opatření	4
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi	6
Odběr a skladování vzorků	7
Systém Panther	9
Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky	9
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně	10
Volitelné materiály	11
Postup testu na systému Panther	11
Poznámky k postupu	14
Interpretace testu – výsledky QC/pacienta	15
Omezení	18
Výsledky klinických studií	20
Očekávané hodnoty	21
Klinické charakteristiky	24
Shoda klinických vzorků	35
Shoda klinických vzorků na systému Panther	37
Analytická účinnost	38
Literatura	46
Kontaktní informace a historie revizí	47

Obecné informace

Určené použití

Test Aptima™ *Neisseria gonorrhoeae* je test se sondou z nukleové kyseliny k amplifikaci cílového řetězce, při němž se používá zachycení cíle pro kvalitativní detekci *in vitro* ribozomální RNA (rRNA) z *Neisseria gonorrhoeae* (GC), což slouží jako pomůcka při diagnostice gonokokového urogenitálního onemocnění za použití systému Panther™. Test lze použít k testování následujících vzorků získaných od symptomatických jedinců: lékařsky odebrané vzorky endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů z mužské uretry, a vzorky mužské a ženské moči. Test lze použít k testování následujících vzorků získaných od asymptomatických jedinců: lékařsky odebrané vzorky endocervikálních a vaginálních stěrů, pacientkou odebrané vzorky vaginálních stěrů¹ a vzorky mužské a ženské moči. Test lze rovněž použít při testování gynekologických vzorků, jak od symptomatických, tak asymptomatických pacientů, které jsou odebrány do roztoku PreservCyt™.

¹Vzorky vaginálních stěrů odebrané pacientkami představují jednu z možností screeningu pacientek v případech, kdy není jinak indikováno vyšetření pánevní oblasti.

Shrnutí a vysvětlení testu

Infekce *Neisseria gonorrhoeae* jsou celosvětově jedny z nejčastějších sexuálně přenášených infekcí. Pouze ve Spojených státech bylo ve střediscích pro kontrolu nemocí v roce 2019 hlášeno odhadem 616 392 nových případů (188 na 100 000 obyvatel) infekcí GC (1).

N. gonorrhoeae jsou příčinnými činiteli onemocnění rodu gonorrhea. *Neisseria* jsou nepohyblivé, gram-negativní diplokoky. Většina infekcí rodem gonorrhea jsou nekomplikované infekce spodního genitálního traktu, které mohou být asymptomatické. Pokud se ale u žen neléčí, mohou se infekce rozšířit a způsobit hluboký pánevní zánět (PID). PID se může projevit jako endometritida, salpingitida, pánevní peritonitida a tubo-ovariální abscesy. U menšího procenta lidí s gonokokovými infekcemi se může vyvinout diseminovaná gonokoková infekce (DGI) (2,3).

Konvenční diagnostika infekce GC vyžaduje izolaci organismu na selektivním médiu nebo pozorování diplokoků ve stěrech obarvených podle Grama (4). Kultivační metody mohou mít dobrou klinickou citlivost, ale jsou vysoce závislé na správném zacházení se vzorky. Nesprávné skladování a transport vzorků může vést ke ztrátě životaschopnosti organismu a k falešně negativním výsledkům. Falešné negativní výsledky mohou být způsobeny také špatnou technikou odběru vzorků, toxickými odběrovými materiály a inhibicí růstu složkami tělesných sekretů (5,6). Běžně používané nekultivační metody k detekci GC zahrnují přímé testy sondou DNA a testy s amplifikací nukleových kyselin (NAAT).

První generace testů NAAT pro GC využívaly nedokonalé technologie, což omezilo jejich účinnost. Mezi tyto problémy patřilo těžkopádné zpracování vzorků a inhibice vzorků, která mohla přinést falešně negativní výsledky (7). Test Aptima *Neisseria gonorrhoeae* (Aptima GC) je druhá generace testů NAAT, která ke zjednodušení zpracování vzorků, amplifikaci cílové rRNA a detekci amplikonu využívá technologii záchytu cíle, transkripční mediovanou amplifikaci (TMA™) a technologii testu ochrany hybridizací (HPA). Studie porovnávající účinnost a inhibici vzorků různých zesilovacích (amplifikačních) systémů prokázaly přínosy technologií záchytu cíle, TMA a HPA (8,9).

Podle příručky „Guidance for the detection of gonorrhoea in England“ (Postup při detekci gonorey v Anglii) z roku 2014, kterou vydala organizace Public Health England, má mít test na gonoreu minimální pozitivní prediktivní hodnotu (PPV) 90 % v lokálním prostředí nebo v patientské populaci (10). Jestliže PPV klesne pod tuto prahovou hodnotu, je vyžadován doplňkový test, který potvrdí pozitivní výsledek testu a zvýší PPV. Doplňkový test je popsán

jako druhý test s amplifikací nukleových kyselin (NAAT), který se provede na stejném vzorku, ale který detekuje jinou cílovou sekvenci nukleové kyseliny. Oba testy Aptima GC i Aptima Combo 2™ ve svém záchytu a detekci cílí na podjednotku 16S rRNA. Záchytná sonda je pro oba testy stejná, ale test Aptima GC rozpoznává při detekci jinou oblast podjednotky 16S rRNA než test Aptima Combo 2, a lze jej tudíž považovat za vhodný doplňkový test ke zvýšení hodnoty PPV testu Aptima Combo 2, jestliže to místní zdravotnické předpisy doporučí.

Principy postupu

Test Aptima GC kombinuje technologie záchytu cíle, TMA a HPA.

Vzorky se odebírají a přenášejí do příslušných transportních zkumavek. Transportní roztok v těchto zkumavkách uvolňuje cílovou rRNA a chrání ji před degradací během skladování. Když se test Aptima GC provádí v laboratoři, cílová molekula rRNA se izoluje ze vzorků za použití záchytového oligomeru pomocí technologie záchytu cíle, která využívá magnetické mikročástice. Záchytový oligomer obsahuje sekvenci komplementární ke specifické oblasti cílové molekuly a řetězec deoxyadenosinových zbytků. Během hybridizačního kroku se sekvencně specifická oblast záchytového oligomeru váže na specifickou oblast cílové molekuly. Komplex záchytového oligomeru a cíle se poté vychytá z roztoku snížením teploty reakce na pokojovou teplotu. Díky tomuto snížení teploty může proběhnout hybridizace mezi deoxyadenosinovou oblastí záchytového oligomeru a polydeoxythymidinovými molekulami, které jsou kovalentně navázané na magnetické částice. Mikročástice, včetně zachycené cílové molekuly, která je na ně navázána, jsou pomocí magnetů přitaženy ke stranám reakční nádoby a supernatant se odsaje. Částice se promyjí, aby se odstranila zbytková matrice vzorku, která může obsahovat inhibitory amplifikační reakce. Po dokončení kroků záchytu cíle jsou vzorky připraveny k amplifikaci.

Testy amplifikace cíle jsou založeny na schopnosti komplementárních oligonukleotidových primerů specificky zesílit a umožňovat enzymatickou amplifikaci cílových řetězců nukleové kyseliny. Reakce TMA Hologic® replikuje specifickou oblast 16S rRNA z GC pomocí intermediární DNA. Pro cílovou molekulu se používá unikátní sada primerů. Detekce sekvencí produktů amplifikace rRNA (amplikon) se provádí za použití hybridizace nukleových kyselin. Jednovláknová chemiluminiscenční sonda DNA, která je komplementární k oblasti cílového amplikonu, je značena molekulou akridinium esteru. Označená sonda DNA se kombinuje s amplikonem za vzniku stabilních hybridů RNA : DNA. Selekční reagencie rozlišuje hybridizovanou od nehybridizované sondy, čímž eliminuje generování signálu z nehybridizované sondy. Během detekčního kroku se světlo emitované z označených hybridů RNA : DNA měří jako fotonové signály v luminometru a jsou uváděny jako relativní světelné jednotky (RLU).

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci (Summary of Safety and Performance, SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (Basic UDI-DI). Chcete-li najít souhrn SSP pro test Aptima *Neisseria gonorrhoeae*, hledejte jej podle základního jedinečného identifikátoru prostředku (Basic Unique Device Identifier, BUDI): **54200455DIAGAPTGCQL**.

Varování a bezpečnostní opatření

- A. K diagnostickému použití *in vitro*.
- B. K profesionálnímu použití.
- C. Další specifická varování, bezpečnostní opatření a postupy pro kontrolu kontaminace systému Panther naleznete v *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Příručka obsluhy systému Panther / Panther Fusion)*.

Pro laboratoře

- D. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- E. Dodržujte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. Ve vyhrazených pracovních prostorech nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensy soupravy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranné brýle a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a reagensy soupravy si pečlivě omyjte ruce.
- F. **Varování: Dráždivý a korozivní.** Zabraňte styku reagensů Auto Detect 2 s kůží, očima a sliznicemi. Pokud tato kapalina přijde do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte vodou. Pokud dojde k rozlití této kapaliny, naředte rozlitou kapalinu vodou předtím, než ji dosucha vytřete.
- G. Pracovní povrchy, pipety a další vybavení pravidelně dekontaminujte 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného.

Informace o práci se vzorky


- H. Tento test byl testován pouze pomocí vzorků z endocervikálních a mužských uretrálních stěrů, kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt, vzorků z vaginálních stěrů a vzorků ženské a mužské moči. Účinnost u jiných vzorků, než které jsou uvedeny v bodě *Odběr a skladování vzorků*, nebyla hodnocena.
- I. Data použitelnosti uvedená na odběrových soupravách se vztahují na místo odběru a nikoli na testovací zařízení. Vzorky odebrané kdykoli před datem použitelnosti odběrové soupravy přepravované a uložené v souladu s příbalovou informací jsou platné pro testování i v případě, že uplyne datum použitelnosti na odběrové zkumavce.
- J. Roztok PreservCyt byl validován jako alternativní médium pro testování pomocí testu Aptima GC. Kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt, které byly zpracovány jinými přístroji než procesorem ThinPrep nebo jinými přístroji, nebyly k použití s testem Aptima GC hodnoceny.
- K. Po přidání moči do transportní zkumavky pro vzorek moči musí hladina kapaliny spadat mezi dvě černé indikátorové linky na štítku zkumavky. V opačném případě musí být vzorek zamítnut.
- L. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, zajistěte při přepravě vzorků vhodné přepravní podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- M. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření. Je třeba, aby vedoucí laboratoře stanovil správné postupy manipulace s jednorázovým materiálem a postupy jeho likvidace. Tuto diagnostickou proceduru smí provádět pouze personál adekvátně vyškolený v manipulaci s infekčními materiály.

- N. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby na vzorky vzájemně nedotýkaly, a použité materiály při likvidaci nepřenášejte nad otevřenými nádobami. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si rukavice.
- O. Pokud laboratoř obdrží transportní zkumavku bez stěru, se dvěma stěry, s čisticím stěrem nebo stěrem nedodaným společností Hologic, musí být vzorek odmítnut. Před odmítnutím transportní zkumavky bez stěru ověřte, jestli se nejedná o transferovou zkumavku na vzorek Aptima, protože tato transportní zkumavka stěr neobsahuje.
- P. Kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt odebírejte podle pokynů výrobce. Alikvoty následně odebrané z lahvičky PreservCyt k testování testem Aptima GC lze zpracovat pouze za použití soupravy pro přenos vzorků Aptima.
- Q. Za určitých podmínek může začít z uzávěru po propíchnutí transportní zkumavky Aptima vytékat tekutina. Aby k tomu nedošlo, postupujte podle pokynů v části *Postup testu v systému Panther*.

Informace o práci s testy

- R. Účinnost testu Aptima GC nebyla hodnocena u dospívajících mladších 15 let.
- S. Tuto soupravu nepoužívejte po uplynutí data použitelnosti.
- T. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagentie testu ze souprav s různými čísly šarží. Kontroly a kapaliny Aptima používané při testu mohou být z různých čísel šarží.
- U. Zabraňte mikrobiální a nukleázové kontaminaci reagentií.
- V. Reagentie skladujte zavíčkované při uvedených teplotách. Při nesprávném skladování reagentií může být účinnost testu negativně ovlivněna. Další informace viz část *Požadavky na skladování reagentií a zacházení s nimi a Postup testu v systému Panther*.
- W. Pokud nebude výslovně uvedeno jinak, nekombinujte žádné reagentie ani kapaliny testu. Nedolévejte reagentie či kapaliny. Systém Panther ověřuje hladiny reagentií.
- X. Některé reagentie v této sadě jsou označeny rizikovými a bezpečnostními symboly.

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (SDS) EU. Pokud jde o informace pro komunikaci o nebezpečí specifické pro váš region, viz knihovnu bezpečnostních datových listů na adrese www.hologic.com/sds. Další informace o symbolech naleznete v legendě symbolů na www.hologic.com/package-inserts.

Informace o nebezpečí pro EU	
-	<p>Amplifikační reagencie <i>HEPES 25–30 %</i> – H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí P280 - Používejte ochranné brýle/ochranný štít</p>
-	<p>Enzymová reagencie <i>HEPES 1–5 %</i> – H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí P280 - Používejte ochranné brýle/ochranný štít</p>
-	<p>Reagencie sondy <i>LAURYL SULFÁTOVÁ LITHNÁ SŮL 35–40 %</i> <i>KYSELINA JANTAROVÁ 10–15 %</i> <i>HYDROXID LITHIA, MONOHYDRÁT, 10–15 %</i> – H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí P280 - Používejte ochranné brýle/ochranný štít</p>
	<p>Selekční reagencie <i>KYSELINA BORITÁ 1–5 %</i> VAROVÁNÍ H315 - Dráždí kůži</p>
-	<p>Reagencie pro záchyt cíle <i>HEPES 5–10 %</i> <i>EDTA 1–5 %</i> <i>HYDROXID LITHIA, MONOHYDRÁT, 1–5 %</i> – H412 - Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí P280 - Používejte ochranné brýle/ochranný štít</p>

Požadavky na skladování reagentů a zacházení s nimi

- A. Následující reagenty jsou stabilní při skladování při teplotě 2 °C až 8 °C (v chladničce):
- Amplifikační reagenty Aptima GC
 - Enzymová reagenty Aptima
 - Reagenty sondy Aptima GC
 - Reagenty pro záchyt cíle Aptima B
 - Pozitivní kontrola Aptima, GC / negativní kontrola Aptima, CT
 - Pozitivní kontrola Aptima, CT / negativní kontrola Aptima, GC
- B. Následující reagenty jsou stabilní při skladování při teplotě 2 °C až 30 °C:
- Rekonstituční roztok pro amplifikaci Aptima GC
 - Rekonstituční roztok pro enzymy Aptima
 - Rekonstituční roztok pro sondy Aptima GC
 - Selekční reagenty Aptima

- C. Následující reagentie je stabilní při skladování při teplotě 15 °C až 30 °C (při pokojové teplotě): Reagentie pro záchyt cíle Aptima GC.
- D. Pracovní reagentie záchytu cíle GC (wTCR GC) je při skladování při teplotě 15 °C až 30°C stabilní po dobu 60 dní. Neukládejte do lednice.
- E. Po rekonstituci jsou enzymová reagentie, amplifikační reagentie GC a reagentie sondy GC stabilní po dobu 60 dnů, pokud jsou skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C.
- F. Jakékoli nepoužité rekonstituované reagentie a wTCR zlikvidujte po 60 dnech nebo po uplynutí data expirace hlavní šarže, podle toho, co nastane dříve.
- G. Kontroly jsou stabilní do data vyznačeného na lahvičkách.
- H. Reagentie uložené v systému Panther mají stabilitu v přístroji po dobu 72 hodin.
- I. Reagentie sondy GC i rekonstituovaná reagentie sondy GC jsou fotosenzitivní. Reagentie skladujte tak, aby byly chráněny před světlem.
- J. Při ohřátí na pokojovou teplotu se mohou některé kontrolní zkumavky zakalit nebo mohou obsahovat sraženiny. Zakalení nebo sraženiny vyskytující se u kontrol neovlivní účinnost kontroly. Kontroly mohou být použity, ať už jsou čiré, nebo zakalené / obsahují sraženiny. Jestliže jsou vyžadovány čiré kontroly, lze urychlit jejich rozpouštění inkubací při horním limitu pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
- K. **Reagentie nezmrazujte.**

Odběr a skladování vzorků

Test Aptima GC slouží k detekci přítomnosti GC ve vzorcích lékařsky odebraných endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů mužské uretry, vzorcích pacientkou odebraných vaginálních stěrů, vzorcích ženské a mužské moči a kapalných vzorcích Pap v roztoku PreservCyt. Účinnost u jiných vzorků než těch, které byly odebrány následujícími soupravami pro odběr vzorků, nebyla hodnocena:

- Souprava pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit for Endocervical and Male Urethral Swab Specimens
- Souprava Aptima pro odběr vzorků ženské a mužské moči
- Souprava pro odběr vzorků Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit
- Souprava pro přenos vzorků Aptima (k použití s gynekologickými vzorky odebranými v roztoku PreservCyt)

A. Pokyny pro odběr:

Pokyny pro odběr naleznete v příslušné příbalové informaci k soupravě pro odběr vzorků.

B. Přeprava a skladování vzorků před testováním:

1. Stěry:

- a. Po odběru přepravte a uložte stěr do transportní zkumavky na stěry při teplotě 2 °C až 30 °C, kde musí být ponechán, dokud nebude testován. Vzorky musejí být testovány pomocí testu Aptima GC do 60 dnů od odběru. V případě nutného delšího skladování zamrazte urogenitální vzorky v transportní zkumavce na stěry do 7 dní od odběru při teplotě -20 °C až -70 °C, díky čemuž je budete moci testovat až do 12 měsíců po odběru (Viz část *Studie stability vzorků*).

2. Vzorky moči:
 - a. Vzorek moči uchovávejte po odběru při teplotě 2 °C až 30 °C a do 24 hodin po odběru jej přeneste do transportní zkumavky pro vzorky moči Aptima. Vzorky přeneste do laboratoře v primární odběrové nádobce nebo v transportní zkumavce při teplotě 2 °C až 30 °C. Skladujte při teplotě 2 °C až 30 °C a zpracované vzorky moči testujte testem Aptima GC do 30 dní od odběru.
 - b. Pokud je nutné delší skladování, zamrazte vzorky moči v transportní zkumavce pro vzorky moči Aptima do 7 dní od odběru při teplotě -20 °C až -70 °C, díky čemuž budete moci testovat až do 12 měsíců po odběru (viz část *Studie stability vzorků*).
3. Kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt:
 - a. Kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt určené k testování GC musí být zpracovány pro cytologii a/nebo přeneseny do transferové zkumavky na vzorek Aptima do 30 dnů po odebrání, pokud jsou uchovávány při teplotě 2 °C až 30 °C (viz část *Studie stability vzorků*).
 - b. Pokud chcete použít postup odebrání alikvotních podílů ThinPrep, postupujte podle pokynů pro odebrání alikvotních podílů uvedených v *ThinPrep Systems Processor Operator's Manual (Příručka obsluhy procesoru ThinPrep Systems)*. Přeneste 1 ml odebraného alikvotního podílu do transferové zkumavky na vzorek Aptima podle pokynů v příbalové informaci k soupravě pro přenos vzorků Aptima a k roztoku pro přenos Aptima.
 - c. Pokud testujete vzorek po zpracování pomocí procesoru ThinPrep Systems, zpracujte kapalnou vzorek Pap v roztoku PreservCyt v souladu s *Příručkou obsluhy procesoru ThinPrep Systems* a příbalovou informací k soupravě pro přenos vzorků Aptima a k roztoku pro přenos Aptima. Přeneste 1 ml tekutiny, která zůstává v lahvičce roztoku PreservCyt, do transferové zkumavky na vzorek Aptima podle pokynů v příbalové informaci k soupravě pro přenos vzorků Aptima a k roztoku pro přenos Aptima.
 - d. Jakmile je kapalnou vzorek Pap v roztoku PreservCyt přenesen do transferové zkumavky na vzorek Aptima, musí být vzorek testován pomocí testu Aptima GC do 30 dnů při skladování při teplotě 2 °C až 8 °C nebo do 14 dnů při skladování při teplotě 15 °C až 30 °C. Pokud je nutné delší skladování, zamrazte vzorek do 7 dní od přenosu do transferové zkumavky na vzorek Aptima na teplotu -20 °C až -70 °C, čímž bude možné testovat vzorek do 12 měsíců po přenosu (viz část *Studie stability vzorků*).

C. Skladování vzorků po testování:

1. Otestované vzorky je nutné skladovat ve stojanu ve svislé poloze.
2. Zakryjte transportní zkumavky na vzorek novým, čistým plastovým filmem nebo fóliovou bariérou.
3. Je-li nutné otestované vzorky zmrazit nebo odeslat, odstraňte z transportních zkumavek na vzorek propichovací uzávěry a nasadte na ně nové, nepropichovací uzávěry. Je-li nutné odeslat vzorky k testování na jiné pracoviště, musejí se dodržet doporučené teploty. Před sejmutím uzávěru z dříve testovaných a znovu uzavřených vzorků je nutné transportní zkumavky na vzorek centrifugovat po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle 420 RCF, aby se veškerá tekutina dostala na dno zkumavky.
Zabraňte rozstříkávání a křížové kontaminaci.

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

Systém Panther

Níže jsou uvedeny reagentie testu Aptima GC pro systém Panther. Vedle názvu reagentie jsou rovněž uvedeny symboly pro identifikaci reagentií.

Reagentie a materiály, které jsou součástí dodávky

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

**Chlazená krabice s testem Aptima Neisseria gonorrhoeae (krabice 1 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)**

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

**Krabice pro pokojovou teplotu s testem Aptima Neisseria gonorrhoeae (krabice 2 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 15 °C až 30 °C)**

Symbol	Součást	Množství
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci Aptima GC <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 11,9 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy Aptima GC <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 6,3 ml
PR	Rekonstituční roztok pro sondy Aptima GC <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 x 15,2 ml
S	Selekční reagentie Aptima GC <i>600 mmol boritanem pufovaného roztoku obsahujícího surfaktant.</i>	1 x 43,0 ml
TCR	Reagentie pro záchyt cíle Aptima GC <i>Pufovaný roztok obsahující tuhé fáze a záchytové oligomery.</i>	1 x 26,0 ml
	Rekonstituční objímky	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list

Sada kontrol Aptima
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

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

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

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

Poznámka: Materiály dostupné od společnosti Hologic mají uvedena katalogová čísla, pokud není uvedeno jinak.

	Kat. č.
Systém Panther	303095
Souprava kapalin pro test Aptima Assay Fluids Kit (promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapalinu a olejová reagentie Aptima)	303014 (1 000 testů)
Autodetekční souprava Aptima Auto Detect Kit	303013 (1 000 testů)
Jednotky s více zkumavkami (MTU)	104772-02
Souprava pytle na odpad Panther	902731
Kryt odpadního koše Panther	504405
Nebo souprava pro běhy Panther Run Kit <i>Obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních košů, kapaliny pro test a autodetekční reagentie.</i>	303096 (5000 testů)
Špičky, 1000 µl s filtrem, konduktivní, s detekcí kapaliny a jednorázové Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u vašeho zástupce	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Souprava pro transfer vzorků Aptima Specimen Transfer Kit <i>k použití se vzorky v roztoku PreservCyt</i>	301154C
Souprava pro transfer vzorků Aptima Specimen Transfer Kit – potiskovatelná <i>k použití se vzorky v roztoku PreservCyt</i>	PRD-05110
Souprava pro odběr vzorků Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit	PRD-03546
Souprava pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit for Endocervical and Male Urethral Swab Specimens	301041
Souprava Aptima pro odběr vzorků mužské a ženské moči	301040
Transportní zkumavky Aptima pro vzorky mužské a ženské moči	105575
Bělidlo, 5 % až 8,25 % (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného	–
Jednorázové rukavice	–

Kalibrační standard SysCheck	301078
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy se 100 testy	–
<i>Rekonstituční roztoky pro amplifikaci, enzymy a reagensie sondy</i>	
CL0041 (100 uzávěrů)	
<i>TCR a selekční reagensie</i>	501604 (100 uzávěrů)

Volitelné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Sada kontrol Aptima	301110
Hologic Bleach Enhancer pro čištění <i>pro rutinní čištění povrchů a zařízení</i>	302101

Postup testu na systému Panther

Poznámka: Další informace o postupu testu naleznete v Příručce obsluhy systému Panther / Panther Fusion.

A. Příprava pracovního prostoru

1. Očistěte pracovní povrchy, kde budou připravovány reagensie a vzorky. Otřete pracovní povrchy 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Nechte chlornan sodný působit na povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte povrchy stolů, na kterých budou připravovány reagensie a vzorky, čistým laboratorním absorpčním ubrusem s gumovou vrstvou.
2. Očistěte samostatný pracovní povrch, na kterém budete připravovat vzorky. Postupujte podle výše uvedeného postupu (krok A.1).
3. Vyčistěte pipetory. Postupujte podle výše uvedeného postupu čištění (krok A.1).

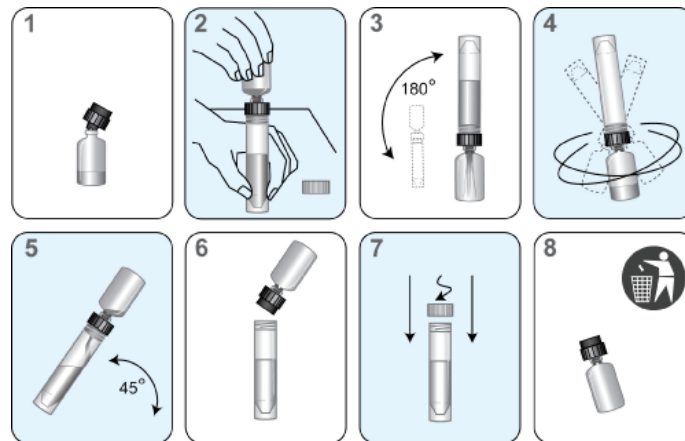
B. Rekonstituce/příprava reagensie z nové soupravy

Poznámka: Před zahájením jakékoli práce na systému Panther je třeba provést rekonstrukci reagensií.

1. K rekonstituci amplifikační reagensie GC, enzymové reagensie a reagensie sondy GC smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagensií s rekonstitučním roztokem. V případě, že rekonstituované roztoky byly uloženy v chladničce, nechte je před použitím dosáhnout pokojové teploty.
 - a. Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagensií. Před připojením rekonstituční objímky se ujistěte, že rekonstituční roztoky a reagensie mají shodné barvy štítků.
 - b. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagensií.
 - c. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagensií a pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky do otvoru lahvičky (obrázek 1, krok 1).
 - d. Otevřete odpovídající rekonstituční roztok a uzávěr položte na čistý zakrytý pracovní povrch.
 - e. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na stole a pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do lahvičky (obrázek 1, krok 2).

- f. Pomalu překlopte spojené lahvičky. Nechte roztok přetéct z lahvičky do skleněné lahvičky (obrázek 1, krok 3).
- g. Roztok ve skle důkladně promíchejte otáčením (obrázek 1, krok 4).
- h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagensie zcela rozpustí, a obraťte spojené lahvičky zpět při naklonění pod úhlem 45°, aby se netvořila pěna (obrázek 1, krok 5). Nechte veškerou tekutinu vtéci zpět do plastové lahvičky.
- i. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku odstraňte (obrázek 1, krok 6).
- j. Znovu uzavřete plastovou lahvičku uzávěrem. Na štítek zapište iniciály obsluhy a datum rekonstituce (obrázek 1, krok 7).
- k. Objímku a lahvičku zlikvidujte (obrázek 1, krok 8).

Varování: Při rekonstituci reagensií zabraňte tvorbě pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.



Obrázek 1. Rekonstituce v systému Panther

2. Příprava pracovní reagensie záchytu cíle GC (wTCR GC)
 - a. Spárujte odpovídající lahvičky TCR GC a TCR-B.
 - b. Zkontrolujte čísla šarže reagensií na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagensií v soupravě.
 - c. Otevřete lahvičku TCR GC a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - d. Otevřete lahvičku TCR-B a nalijte celý obsah do lahvičky TCR GC. Malé množství roztoku zůstane v lahvičce s TCR-B.
 - e. Uzavřete lahvičku s TCR GC a krouživými pohyby jemně promíchejte její obsah. Při tomto kroku zabraňte tvorbě pěny.
 - f. Na štítek zapište iniciály obsluhy a aktuální datum.
 - g. Zlikvidujte lahvičku TCR-B a její uzávěr.
3. Příprava selekční reagensie
 - a. Zkontrolujte číslo šarže na lahvičce s reagensiemi, abyste se ujistili, že odpovídá číslu šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže.
 - b. Na štítek zapište iniciály obsluhy a aktuální datum.

Poznámka: Před vložením do systému lahvičky amplifikační reagensie GC, enzymové reagensie GC, reagensie sondy GC a selekční reagensie GC jemným převrácením důkladně promíchejte. Při převrácení lahviček s reagensiemi zabraňte tvorbě pěny.

C. Příprava dříve rekonstituovaných reagensí

1. Před zahájením testu musejí dříve rekonstituované amplifikační reagensie, enzymové reagensie a reagensie sondy dosáhnout pokojové teploty (15 až 30 °C).
2. Pokud rekonstituovaná reagensie sondy GC obsahuje sraženinu, která se při pokojové teplotě nerozpustí, zahřívejte uzavřenou lahvičku při teplotě, která nepřekročí 62 °C, po dobu 1 až 2 minut. Po tomto zahřívacím kroku může být reagensie sondy GC použita i v případě, že v ní zůstane zbytková sraženina. Reagensii sondy GC promíchejte převrácením. Dávejte pozor, aby se před vložením do systému nevytvořila pěna.
3. Před vložením reagensí do systému všechny reagensie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagensii zabraňte tvorbě pěny.
4. Láhve s reagensii nedoplňujte. Systém Panther rozpozná lahvičky, které byly doplněny, a zamítne je.

Varování: Dostatečné promísení reagensí je nezbytné pro dosažení požadovaných výsledků testu.

D. Manipulace se vzorky

1. Před zpracováním nechte kontroly a vzorky dosáhnout pokojové teploty.
2. **Vzorky neprotřepávejte na vortexu.**
3. Vizually zkontrolujte, zda všechny zkumavky na vzorky splňují jedno z těchto kritérií:
 - a. Přítomnost jediného modrého odběrového tampónu Aptima v unisexové transportní zkumavce na vzorky.
 - b. Přítomnost jediného růžového odběrového tampónu Aptima v transportní zkumavce pro odběr více typů stěrů Multitest nebo vaginální stěry.
 - c. Konečný objem moči mezi černými plnicími liniemi transportní zkumavky pro vzorky moči.
 - d. Nepřítomnost stěry v transportní zkumavce Aptima pro kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt.
4. Před vložením do stojanu zkumavky se vzorky zkontrolujte.
 - a. Pokud zkumavka se vzorkem obsahuje bubliny v prostoru mezi roztokem a uzávěrem, centrifugujte zkumavku po dobu 5 minut při 420 RCF, abyste bubliny odstranili.
 - b. Pokud má zkumavka se vzorkem menší objem, než je typicky pozorován při dodržení pokynů k odběru, centrifugujte zkumavku po dobu 5 minut při 420 RCF, abyste zajistili, že v uzávěru není kapalina.
 - c. Pokud se hladina kapaliny ve zkumavce se vzorkem moči nenachází mezi dvěma černými indikátorovými linkami na štítku, musí být vzorek odmítnut. Nepropichujte přeplněnou zkumavku.
 - d. Pokud zkumavka se vzorkem moči obsahuje sraženinu, zahřívejte vzorek při 37 °C po dobu až 5 minut. Pokud se sraženina nerozpustí, vizuálně ověřte, že sraženina nebude bránit dodávání vzorku.

Poznámka: Pokud nedodržíte kroky 4 a–c, může z uzávěru zkumavky se vzorky vytéct kapalina.

Poznámka: Z každé zkumavky se vzorkem lze otestovat až 4 samostatné alikvoty. Pokud se pokusíte odpipetovat více než 4 alikvoty ze zkumavky se vzorkem, může dojít k chybám zpracování.

E. Příprava systému

1. Nastavte systém podle pokynů uvedených v *Příručce obsluhy systému Panther / Panther Fusion* a v části *Poznámky k postupu*. Použijte stojany na reagensie vhodné velikosti a TCR adaptéry.
2. Vložte vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. K zajištění správného postupu práce se softwarem Aptima Assay Software v systému Panther je nutný jeden pár kontrol. Zkumavky s pozitivní kontrolou, CT / negativní kontrolou, GC a pozitivní kontrolou, GC / negativní kontrolou CT zkumavek můžete vložit do libovolné pozice na stojanu nebo do libovolné řady vzorků v systému Panther. Pipetování vzorku pacienta začne, jestliže byla splněna jedna z následujících dvou podmínek:
 - a. Systém momentálně zpracovává dvojici kontrol.
 - b. V systému jsou registrovány platné výsledky kontrol.
2. Jakmile byly kontrolní zkumavky napipetovány a jsou zpracovávány pro konkrétní soupravu reagensí, mohou být vzorky pacientů použity s přiřazenou soupravou reagensí testu do 24 hodin **kromě následujících výjimek**:
 - a. Výsledky kontrol jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagensí testu je vyjmuta ze systému.
 - c. Přiřazená souprava reagensí testu překročila limity stability.
3. Každá zkumavka s kontrolou Aptima může být testována jednou. Chcete-li ze zkumavky pipetovat více než jednou, může dojít k procesním chybám.

B. Teplota

Pokožková teplota je definována jako 15 až 30 °C.

C. Prášek z rukavic

Stejně jako u jiných systémů reagensí může nadbytek talku z rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

D. Protokol monitorování kontaminace laboratoří pro systém Panther

Existuje mnoho faktorů specifických pro laboratorní prostředí, které mohou přispět ke kontaminaci, včetně počtu prováděných testů, pracovního postupu, výskytu onemocnění a různých dalších laboratorních činností. Tyto faktory je třeba brát v úvahu při zjišťování frekvence monitorování kontaminace. Intervaly pro sledování kontaminace je třeba stanovit na základě postupů a praxe jednotlivých laboratoří.

Ke sledování laboratorní kontaminace je možné provést následující postup pomocí odběrové soupravy pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit for Endocervical and Male Urethral Swab Specimens:

1. Označte transportní zkumavky pro přenos stěrů čísly odpovídajícími oblastem, které mají být testovány.
2. Vyjměte stěr pro odběr vzorku (modrý tyčinkový stěr se zeleným potiskem) z obalu, navlhčete jej v médiu pro transport vzorků a kruhovým pohybem proveďte stěr určené oblasti.
3. Okamžitě vložte stěr do transportní zkumavky.
4. Opatrně odlomte tyčinku stěru v místě označení; dbejte přitom na to, aby nedošlo k rozstříknutí obsahu.
5. Transportní zkumavku pro přenos stěrů znovu pevně uzavřete.
6. Opakujte kroky 2 až 5 pro každou oblast, kde má být stěr proveden.

V případě pozitivních nebo nejednoznačných výsledků GC viz část *Interpretace testu – výsledky QC/pacienta*. Další informace o monitorování kontaminace u systémů Panther získáte od oddělení technické podpory společnosti Hologic.

Interpretace testu – výsledky QC/pacienta

A. Interpretace testu

Výsledky testu jsou automaticky interpretovány softwarem Aptima Assay Software podle protokolu GC. Výsledek testu může být negativní, nejednoznačný, pozitivní nebo neplatný, jak je určeno celkovým RLU v detekčním kroku (viz níže). Výsledek testu může být neplatný kvůli hodnotám RLU mimo normální očekávaná rozmezí. Počáteční nejednoznačné a neplatné výsledky testů je třeba znovu otestovat.

Interpretace testu	Celkový počet RLU (x 1000)
Negativní	0* až < 50
Nejednoznačný	50 až < 100
Nízká RLU, pozitivní ^{1,2}	100 až < 2000
Pozitivní ¹	2000 až < 12 000
Neplatný	0* nebo > 12 000

* Nulový (0 x 1000) výsledek RLU ve zprávě k běhu indikuje hodnotu mezi nulou a 999 RLU. Hodnoty RLU 690 budou v systému Panther hlášené jako neplatné.

¹ V tabulce 3 najdete informace o distribuci RLU u výsledků. Míra RLU neudává hladinu výskytu mikroorganismu ve vzorku.

² V rozsahu níže pozitivních hodnot je třeba data indikující pozitivitu výsledku vykládat opatrně a přihlídnout ke skutečnosti, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků může být vyšší než těch skutečně pozitivních.

B. Výsledky kontroly kvality a přijatelnost

Negativní kontrola Aptima pro GC označená jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“ a pozitivní kontrola Aptima pro GC označená jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“ fungují v tomto testu jako kontroly kroků zachytu, amplifikace a detekce cíle. V souladu s pokyny nebo požadavky místních, státních a/nebo federálních předpisů nebo akreditačních organizací mohou být zahrnuty další kontroly pro lýzu buněk a stabilizaci RNA. Pozitivní kontrola pro GC označená jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“ obsahuje neinfekční GC rRNA. V případě potřeby lze objednat další kontroly jako sadu. Správná příprava vzorků je vizuálně potvrzena přítomností jednoho stěru Aptima v transportní zkumavce pro stěry, konečným objemem moči mezi černými plnicími liniemi transportní zkumavky pro vzorek moči nebo nepřítomností stěru v transferové zkumavce na vzorek Aptima pro kapalné vzorky Pap.

Pozitivní kontroly musí vytvářet následující výsledky testu:

Kontrola	Celkový počet RLU (x 1000)	Výsledek GC
Pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC	0* a < 50	Negativní
Pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT	≥ 100 a < 12 000	Pozitivní

* Nulový (0 x 1000) výsledek RLU ve zprávě k běhu indikuje hodnotu mezi nulou a 999 RLU. Hodnoty RLU menší než 690 budou v systému Panther hlášené jako neplatné.

1. Software Aptima Assay Software automaticky vyhodnocuje kontroly podle výše uvedených kritérií a hlásí stav běhu jako PASS (PROŠEL), jsou-li splněna kritéria kontroly, a FAIL (NEPROŠEL), pokud nejsou splněna kritéria kontroly běhu.
2. Pokud je stav běhu FAIL (NEPROŠEL), všechny výsledky testů v daném běhu jsou neplatné a nesmí být hlášeny.
3. Každá laboratoř si sama zavede vhodné kontrolní postupy, které budou splňovat místní požadavky.

Poznámka: Viz část *Odstraňování potíží nebo se obraťte na technickou podporu společnosti Hologic s žádostí o pomoc při kontrole mimo stanovené rozmezí.*

4. Negativní kontroly nemusí být účinné při sledování náhodného přenosu. Výsledky z vysoce cílené studie analýzy přenosu, která byla provedena za účelem demonstrace kontroly přenosu na systému Panther, jsou k dispozici v části *Studie přenosu pro systém Panther.*

C. Kontrola přípravy vzorku (volitelná)

Negativní kontrola Aptima pro GC označená jako „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“ a pozitivní kontrola Aptima pro GC označená jako „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“ fungují v tomto testu jako kontroly kroků záchytu, amplifikace a detekce cíle a je nutné je zahrnout do každého provedení testu. V případě potřeby lze testovat lýzu buněk a stabilizaci RNA v souladu s požadavky příslušných akreditačních organizací nebo jednotlivých laboratorních postupů. Známé pozitivní vzorky mohou sloužit jako kontroly tím, že jsou připraveny a testovány ve spojení s neznámými vzorky. Vzorky používané jako kontroly přípravy musí být uchovávány, používány a testovány v souladu s příbalovou informací. Kontroly přípravy vzorků musí být interpretovány stejným způsobem, jaký je popsán u vzorků pacientů. Viz část *Interpretace testu – výsledky QC/pacienta a/nebo Výsledky testů pacienta.*

D. Výsledky testů pacienta

1. Pokud kontroly v jakémkoli běhu nevedou k očekávaným výsledkům, výsledky testů vzorků pacienta ve stejném běhu nesmí být hlášeny.
2. Výsledky vzorků ze stěrů, moči a kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt. Viz *Poznámky* níže.
 - a. Počáteční výsledky

GC Pos*	Pozitivní na GC rRNA.
GC Neg	Předpokládaný negativní výsledek na GC rRNA.
GC Nejednoznačný	Vzorek musí být znovu otestován.
Neplatný	Vzorek musí být znovu otestován.

b. Výsledky opakovaného testování

GC Pos*	Pozitivní na GC rRNA.
GC Neg	Předpokládaný negativní výsledek na GC rRNA.
GC Nejednoznačný	Neurčité, je nutné odebrat nový vzorek.
Neplatný	Neurčité, je nutné odebrat nový vzorek.

*Do této kategorie patří pozitivní vzorky s nízkou hodnotou RLU. Viz část *Interpretace testu – výsledky QC/pacienta* výše.

Poznámky

- První platný a jednoznačný výsledek pro každou analyzovanou látku je výsledek, který by měl být zaznamenán.
- U asymptomatických jedinců nebo jedinců z populací s nízkou prevalencí je třeba při interpretaci výsledků testu Aptima GC pečlivě zvážit data účinnosti.
- Negativní výsledek nevylučuje přítomnost infekce GC, protože výsledky jsou závislé na adekvátním odběru vzorků, nepřítomnosti inhibitorů a dostatku rRNA k detekci. Výsledky testu mohou být ovlivněny nesprávným odebráním vzorku, nesprávným skladováním vzorku, technickou chybou, promícháním vzorku nebo cílovými hladinami pod limitem detekce testu.
- Testování endocervikálního vzorku se doporučuje provést u pacientek, u nichž existuje klinické podezření na infekci chlamydií nebo gonokokem. Pokud jsou odebrány stěry vzorku Pap i endocervikální stěry, musí být kapalný vzorek Pap v roztoku PreservCyt odebrán před vzorkem endocervikálního stěru.

Omezení

- A. Tento test mohou používat pouze osoby vyškolené v provedení příslušných postupů. Nedodržení pokynů uvedených v této příbalové informaci povede k chybným výsledkům.
- B. Účinky používání tampónů, výplachů vaginy a proměnné odebrání vzorků nebyly hodnoceny z hlediska jejich vlivu na detekci GC.
- C. Přítomnost hlenu v endocervikálních vzorcích do detekce GC testem Aptima GC nezasahuje. Přebytkový hlen je však nutné odstranit k řádnému odebrání endocervikálních vzorků.
- D. Odběr vzorků moči, vaginálních stěrů a kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt nemá sloužit jako náhrada cervikálního vyšetření a endocervikálních vzorků při diagnostice urogenitálních infekcí u žen. Pacienti/pacientky mohou mít zánět děložního hrdla, uretry, infekce močových cest a vaginální infekce z jiných příčin nebo souběžné infekce s jinými infekčními činiteli.
- E. Test Aptima GC není určen k hodnocení podezření ze sexuálního zneužívání nebo pro jiné medicínsko-právní indikace.
- F. Spolehlivé výsledky jsou závislé na adekvátním odběru vzorků. Vzhledem k tomu, že transportní systém použitý pro tento test neumožňuje mikroskopické posouzení přiměřenosti vzorku, je nezbytné proškolit klinické lékaře o vhodných technikách odběru vzorků. Přečtěte si příbalovou informaci příslušné soupravy Aptima pro odběr vzorků.
- G. Terapeutické selhání nebo úspěch nelze v rámci testu Aptima GC určit, jelikož nukleová kyselina může přetrvávat i po vhodné antimikrobiální terapii.
- H. Výsledky testu Aptima GC je třeba interpretovat ve spojení s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- I. Negativní výsledek nevylučuje možnou infekci, protože výsledky závisí na adekvátním odběru vzorků. Výsledky testu mohou být ovlivněny nesprávným odebráním vzorku, technickou chybou, promícháním vzorku nebo cílovými hladinami pod detekčním limitem testu.
- J. Test Aptima GC poskytuje kvalitativní výsledky. Proto není možné provést korelaci mezi velikostí signálu pozitivního testování a počtem organismů ve vzorku.
- K. U vaginálních stěrů, endocervikálních stěrů, mužských uretrálních stěrů a klinických studií vzorků moči je účinnost týkající se detekce GC odvozena z populací s vysokou prevalencí. Pozitivní výsledky u populací s nízkou prevalencí je nutné vykládat opatrně s přihlédnutím ke skutečnosti, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků může být vyšší než těch skutečně pozitivních.
- L. U klinických studií kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt je účinnost testu Aptima GC při detekci GC odvozena primárně od populací s nízkou prevalencí. Pozitivní výsledky v populacích s nízkou prevalencí je však třeba opatrně interpretovat s tím, že pravděpodobnost falešného pozitivního výskytu může být vyšší než výskyt skutečně pozitivního.
- M. Účinnost soupravy pro přenos vzorků Aptima nebyla vyhodnocena pro testování stejného kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt před a po zpracování ThinPrep Pap.
- N. Kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt, které byly zpracovány jinými přístroji než procesorem ThinPrep 2000, nebyly k použití v testech Aptima hodnoceny.

- O. Vzorky vaginálních stěrů odebrané pacientkami jsou jednou z možností screeningu pacientek v případech, kdy není jinak indikováno vyšetření pánevní oblasti.
- P. Aplikace pacientkou odebíraných vzorků vaginálních stěrů je omezena na zdravotnické zařízení, kde je k dispozici podpora a poradenství k vysvětlení příslušných postupů a bezpečnostních opatření.
- Q. Test Aptima GC nebyl validován z hlediska použití se vzorky vaginálních stěrů odebranými pacientkami doma.
- R. Účinnost testu Aptima GC nebyla hodnocena u dospívajících mladších 15 let.
- S. Testování vzorků z uretrálních stěrů od asymptomatických mužů se nedoporučuje, jelikož v klinické studii byla pozorována nízká prediktivní hodnota pozitivního výsledku.
- T. Účinnost systému Panther nebyla vyhodnocena v nadmořských výškách nad 2000 m.
- U. Neexistuje žádný důkaz degradace nukleových kyselin v roztoku PreservCyt. Pokud má kapalný vzorek Pap v roztoku PreservCyt malý počet buněk GC, může dojít k nerovnoměrnému rozložení tohoto buněčného materiálu. Také ve srovnání s přímým odběrem vzorků pomocí transportních médií Aptima vede dodatečný objem roztoku PreservCyt k většímu ředění vzorku materiálu. Tyto faktory mohou ovlivnit schopnost detekovat malé množství organismů v odebraném materiálu. Pokud negativní výsledky ze vzorku neodpovídají klinickému obrazu, může být nutné odebrat nový vzorek.
- V. Zákazníci musí nezávisle validovat proces přenosu LIS.

Výsledky klinických studií

Charakteristiky výkonu testu Aptima GC byly stanoveny ve dvou klinických zkoumáních provedených v Severní Americe. Prvním klinickým zkoumáním se stanovovala citlivost, specifická a prediktivní hodnoty testu Aptima GC za použití vzorků lékařsky odebraných endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů z mužské uretry, vzorků pacientkami odebraných vaginálních stěrů a vzorků mužské a ženské moči. Prvním zkoumáním se také hodnotila přesnost testu Aptima GC, když se prováděl podle předpisů institutu NCCLS (11). Druhé klinické zkoumání stanovilo citlivost, specifickou a prediktivní hodnoty testu Aptima GC za použití transportního média PreservCyt (součást systému ThinPrep 2000). Testem Aptima GC byly také z hlediska přesnosti v rámci laboratoře vyhodnoceny kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt.

Prvotní klinická zkoumání ke stanovení citlivosti, specifické a prediktivních hodnot testu Aptima GC se prováděla pomocí poloautomatizovaného systému DTS™. Test byl poté migrován na plně automatizovaný systém Tigris™ DTS (beze změny ve složení testu) pomocí klinických studií porovnatelnosti. A v poslední řadě byly klinické studie porovnatelnosti použity při migraci testu Aptima GC ze systému Tigris DTS na aktuálně používaný systém, kterým je systém Panther. Mohou zde být prezentována i data z počátečních studií, kde se využívaly systémy DTS nebo Tigris DTS, která podporují způsob stanovení účinnosti testu, avšak používání těchto systémů již není výrobcem podporováno.

Očekávané hodnoty

Prevalence

Prevalence GC v populacích pacientů závisí na rizikových faktorech, jako je věk, pohlaví, přítomnost příznaků, typ kliniky a testovací metody. Přehled prevalence GC v Severní Americe podle typu vzorku, jak byl stanoven testem Aptima GC na systému DTS, je uveden v tabulkách 1 a 1a pro dvě klinická zkoumání. Vysvětlení charakteristik výkonu pro klinické vzorky najdete v částech *Klinická studie se vzorky z endocervikálních stěrů, stěrů z mužské uretry, vaginálních stěrů a vzorků moči* a *Klinická studie s kapalnými vzorky Pap v roztoku PreservCyt* v části *Klinická účinnost*.

Tabulka 1: Prevalence *N. gonorrhoeae* podle klinického pracoviště a celkově na základě výsledků testu Aptima GC

Pracoviště	% (počet pozitivních / počet testovaných)											
	MS		MU		FS		FU		PVS		CVS	
1	21,4	(54/252)	21,4	(54/252)	6,1	(14/229)	5,7	(13/230)	6,4	(14/219)	6,1	(14/230)
2	26,5	(93/351)	20,1	(71/354)	16,1	(32/199)	15,0	(30/200)	16,2	(32/198)	16,6	(33/199)
3	0,0	(0/4)	0,0	(0/4)	4,4	(5/114)	3,5	(4/113)	3,6	(4/111)	3,5	(4/113)
4	N/A		N/A		2,3	(6/266)	1,9	(5/270)	2,2	(6/267)	3,0	(8/269)
5	5,5	(11/200)	5,5	(11/200)	1,5	(3/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)
6	14,5	(44/304)	13,4	(41/305)	8,2	(24/294)	5,7	(17/296)	8,3	(24/290)	7,5	(22/295)
7	5,8	(12/207)	5,8	(12/207)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)
8	N/A		N/A		2,0	(1/49)	2,0	(1/49)	2,1	(1/48)	2,0	(1/51)
Vše	16,2	(214/1318)	14,3	(189/1322)	5,9	(85/1452)	4,9	(72/1459)	5,8	(83/1434)	5,8	(84/1458)

MS = mužský uretrální stěr, MU = mužská moč, FS = ženský endocervikální stěr, FU = ženská moč, PVS = pacientkou odebraný vaginální stěr, CVS = lékařsky odebraný vaginální stěr.

Tabulka 1a: Prevalence *N. gonorrhoeae* podle klinického pracoviště a celkově na základě výsledků testu Aptima GC za použití kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt

Pracoviště	% (počet pozitivních / počet testovaných)	
1	5,0	(5/100)
2	0,8	(1/124)
3	0,8	(4/475)
4	1,4	(4/287)
5	0,0	(0/297)
6	0,5	(2/364)
Vše	1,0	(16/1647)

Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty hypotetických prevalencí v Severní Americe

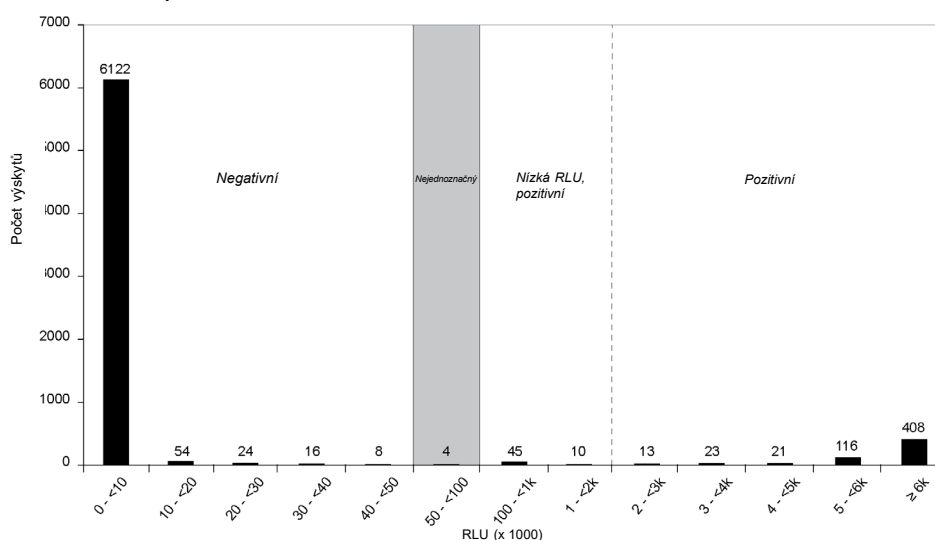
Odhadovaná pozitivní a negativní prediktivní hodnota (PPV a NPV) pro různé míry hypotetické prevalence za použití testu Aptima GC jsou uvedené v tabulce 2. Tyto výpočty vycházejí z míry hypotetických prevalencí a celkové citlivosti a specifity odhadované z infikovaného stavu pacienta. Celková citlivost a specifita pro GC byla 97,6 %, resp. 99,3 % (tabulka 2). Skutečné hodnoty PPV a NPV pro vzorky lékařsky odebraných endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů z mužské uretry, vzorky pacientkami odebraných vaginálních stěrů a vzorky mužské a ženské moči jsou uvedené v tabulce 6 pro každé klinické pracoviště a celkově. Skutečné hodnoty PPV a NPV pro kapalné Pap vzorky v roztoku PreservCyt jsou uvedené v tabulce 6a.

Tabulka 2: Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty pro míru hypotetických prevalencí v Severní Americe

Míra hypotetické prevalence (%)	Citlivost (%)	Specifita (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	97,6	99,3	58,7	100,0
2	97,6	99,3	74,1	100,0
5	97,6	99,3	88,1	99,9
10	97,6	99,3	94,0	99,7
15	97,6	99,3	96,1	99,6
20	97,6	99,3	97,2	99,4
25	97,6	99,3	97,9	99,2
30	97,6	99,3	98,4	99,0

Distribuce RLU v testu Aptima GC

Na obrázku 2 je znázorněná distribuce RLU v testu Aptima GC pro následující typy vzorků testované v klinické studii: od symptomatických subjektů, vzorky z lékařsky odebraných endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů z mužské uretry, vzorky pacientkami odebraných vaginálních stěrů a vzorky mužské a ženské moči; od asymptomatických subjektů, vzorky lékařsky odebraných endocervikálních a vaginálních stěrů, vzorky pacientkami odebraných vaginálních stěrů a vzorky mužské a ženské moči. Tabulka 3 udává souhrn distribuce RLU pro celkový počet pozitivních a celkový počet negativních výsledků a také počet falešně pozitivních a falešně negativních výsledků pro tyto typy vzorků ve vztahu k infikovanému stavu pacienta. U některých typů vzorků existuje tendence ke zvyšování podílu skutečně pozitivních vzorků společně s nárůstem hodnot RLU.



Obrázek 2. Frekvence distribuce RLU pro test Aptima GC

Tabulka 3: Distribuce RLU pro test Aptima GC

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

CVS = lékařsky odebraný vaginální stěr, **PVS** = pacientkou odebraný vaginální stěr, pouze z asymptomatických subjektů, **FS** = ženský endocervikální stěr, **MS** = mužský uretrální stěr, pouze ze symptomatických subjektů, **FU** = ženská moč, **MU** = mužská moč.

Vystínovaný sloupec označuje oblast nejednoznačných výsledků.

Klinické charakteristiky

Citlivost, specificita a prediktivní hodnoty testu Aptima GC byly stanoveny za použití systému DTS. Důkaz rovnocennosti systémů DTS, Tigris DTS a Panther najdete v části *Shoda v systému Tigris DTS a Shoda klinických vzorků na systému Panther*. Test Aptima GC se v současnosti smí používat pouze se systémem Panther.

Klinická studie se vzorky z endocervikálních stěrů, stěrů z mužské uretry, vaginálních stěrů a vzorků moči

Vzorky lékařsky odebraných endocervikálních a vaginálních stěrů a stěrů z mužské uretry, vzorky pacientkami odebraných vaginálních stěrů a vzorky mužské a ženské moči byly odebrány od 2787 symptomatických a asymptomatických, mužských a ženských subjektů, kteří navštěvovali klinická pracoviště pro gynekologii/porodnictví (OB/GYN), sexuálně přenosná onemocnění (STD), dospívající a plánované rodičovství na osmi zeměpisně odlišených klinických pracovištích v Severní Americe. Pacienti byli klasifikováni jako symptomatictí, pokud hlásili příznaky jako výtok, dysurie a bolest v pánevní oblasti. Pacienti, kteří žádné příznaky nehlásili, byli klasifikováni jako asymptomatictí. Ze 1392 asymptomatických subjektů zahrnutých do studie byly 2 mladší 16 let, 237 ve věku 16 až 20 let, 423 ve věku od 21 do 25 let a 730 bylo starších 25 let. Z 1395 symptomatických subjektů zahrnutých do studie bylo 211 ve věku 16 až 20 let, 494 ve věku od 21 do 25 let a 690 bylo starších 25 let.

Od každého z 1322 vhodných mužských subjektů byly odebrány tři vzorky. Od každého z 1465 vhodných ženských subjektů bylo odebráno pět vzorků. U mužských subjektů byly odebrány dva randomizované uretrální stěry a poté jeden vzorek moči. U ženských subjektů byl odebrán jeden vzorek moči a poté jeden pacientkou odebraný vaginální stěr, jeden lékařsky odebraný vaginální stěr a dva randomizované endocervikální stěry. Ze dvou vaginálních stěrů, jednoho endocervikálního stěru, jednoho stěru z mužské uretry a z alikvotu mužské a ženské moči byly získány výsledky GC testu Aptima GC a Aptima Combo 2. Zbývající endocervikální stěr, stěr z mužské uretry a alikvot mužské a ženské moči byly testovány pomocí jiného komerčně dostupného testu NAAT. Vzorky endocervikálních stěrů a stěrů mužské uretry a vzorky mužské a ženské moči, které byly testovány v testu Aptima Combo 2 a v dalším komerčně dostupném testu NAAT, se použily jako referenční test NAAT ke stanovení infekčního stavu každého subjektu. Testování vzorků bylo provedeno buď v místě registrace subjektu, nebo v externím testovacím pracovišti.

Veškeré výpočty účinnosti byly založeny na celkovém počtu výsledků testu Aptima GC pro vzorky z endocervikálních, vaginálních a mužských uretrálních stěrů a mužské a ženské vzorky moči ve srovnání s algoritmem infekčního stavu pacienta pro každé pohlaví. V algoritmu bylo označení subjektu infekčního nebo neinfekčního GC založeno na výsledku stěru a vzorku moči z komerčně dostupného testu Aptima Combo 2 a dalšího komerčně dostupného testu NAAT. Subjekty byly považovány za infikované GC, pokud byly dva ze čtyř stěrů a vzorků moči pozitivně testovány v testu Aptima Combo 2 a dalším referenčním testem NAAT (jeden vzorek pozitivní v každém testu NAAT). Subjekty byly považovány za neinfekční, pokud byly pozitivní méně než dva referenční výsledky NAAT. Kultura nebyla používána jako referenční test.

K výpočtu citlivosti a specificity bylo použito celkem 7653 výsledků testu Aptima GC (za pomoci systému DTS). V tabulce 4 jsou příslušně uvedeny citlivost a specificita pro GC na základě pohlaví, typu vzorku a symptomatického stavu. Tabulka 6 zobrazuje citlivost, specificitu a prediktivní hodnoty pro test Aptima GC v porovnání s infekčním stavem pacienta pro každé klinické pracoviště a celkově. Tabulky 7a – 7e shrnují počet výsledků symptomatických a asymptomatických subjektů označených jako infekční nebo neinfekční GC podle algoritmu infikovaného stavu pacienta.

Z registrovaných 2787 subjektů mělo 15 subjektů neznámý stav infekce GC. Subjekty byly označeny jako pacienti s neznámým stavem infekce, pokud chyběly výsledky, bez nichž nelze přesvědčivě určit stav infekce. Výsledky těchto subjektů nebyly do výpočtů účinnosti zahrnuty. Z 7704 výsledků testu Aptima GC bylo 22 vzorků (0,29 %), které nejprve vykazovaly neplatné nebo nejednoznačné výsledky testu. Po opětovném otestování těchto vzorků zůstaly nejednoznačné 4 a byly z analýzy vyřazeny. Zbývajících 18 vzorků vykazovalo po opětovném otestování platné výsledky testu a byly použity ve výpočtech klinické účinnosti.

Tabulka 4: Citlivost a specifická testu Aptima GC vzhledem k infekčnímu stavu pacienta a podle symptomatického stavu a celkově pro stěr z mužské uretry, mužskou moč, ženský endocervikální stěr, ženskou moč, vaginální stěr odebraný asymptomatickou pacientkou a lékařsky odebraný vaginální stěr

Vzorek	Stav symptomů	N	TP	FP	TN	FN	Citlivost (95 % CI)		Specifická (95 % CI)		
Muži	Stěr	Symptomatický	575	171	10 ^a	393	1	99,4	(96,8–100)	97,5	(95,5–98,8)
		Asymptomatický	745	9	5 ^c	730	1	90,0	(55,5–99,7)	99,3	(98,4–99,8)
	Moč	Symptomatický	576	171	4 ^b	400	1	99,4	(96,8–100)	99,0	(97,5–99,7)
		Asymptomatický	745	9	5 ^c	730	1	90,0	(55,5–99,7)	99,3	(98,4–99,8)
	Vše	1321	180	9 ^d	1130	2	98,9	(96,1–99,9)	99,2	(98,5–99,6)	
Ženy	Stěr	Symptomatický	805	52	8 ^e	744	1	98,1	(89,9–100)	98,9	(97,9–99,5)
		Asymptomatický	635	20	5 ^f	609	1	95,2	(76,2–99,9)	99,2	(98,1–99,7)
		Vše	1440	72	13 ^g	1353	2	97,3	(90,6–99,7)	99,0	(98,4–99,5)
	Moč	Symptomatický	810	48	2 ^h	755	5	90,6	(79,3–96,9)	99,7	(99,0–100)
		Asymptomatický	639	21	1 ⁱ	616	1	95,5	(77,2–99,9)	99,8	(99,1–100)
		Vše	1449	69	3 ^j	1371	6	92,0	(83,4–97,0)	99,8	(99,4–100)
Odebráno pacientkou	Vaginální stěr	Asymptomatický	629	21	4 ^k	604	0	100	(83,9–100)	99,3	(98,3–99,8)
Odebráno lékařem	Vaginální stěr	Symptomatický	809	52	7 ^m	749	1	98,1	(89,9–100)	99,1	(98,1–99,6)
		Asymptomatický	637	21	4 ⁿ	611	1	95,5	(77,2–99,9)	99,3	(98,3–99,8)
		Vše	1446	73	11 ^o	1360	2	97,3	(90,7–99,7)	99,2	(98,6–99,6)

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

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

Klinická studie kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt

Byla provedena prospektivní multicentrická klinická studie s cílem zhodnotit použití transportního média PreservCyt jako alternativního média pro gynekologické vzorky pro detekci *N. gonorrhoeae* testem Aptima GC. Během klinické studie bylo hodnoceno tisíc šest set čtyřicet sedm (1647) symptomatických a asymptomatických subjektů, které navštěvovaly oddělení gynekologie/ porodnictví (OB/GYN), plánování rodiny, oddělení veřejného zdraví, ženské oddělení a oddělení venerologie (STD). Z těchto subjektů bylo 1288 subjektů asymptomatických a 359 subjektů bylo symptomatických (Tabulka 7e). Subjekty byly registrovány na pracovištích s prevalencí GC, která ležela v rozmezí 0,0 % až 5,0 % (Tabulka 6a).

Od každého vhodného subjektu byly odebrány dva vzorky: jeden kapalných vzorek Pap v roztoku PreservCyt a jeden vzorek endocervikálního stěru. Kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt byly odbírány špachtlí / cytologickým kartáčkem nebo metličkovitým zařízením pro odběr cervikálních vzorků. V tabulce 5 je znázorněna distribuce zařízení pro odběr cervikálních vzorků na základě odběrového pracoviště a celkově.

Kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt byly zpracovány v souladu s ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual (Příručkou obsluhy procesoru ThinPrep 2000) a příbalovou informací soupravy pro přenos vzorků Aptima a roztoku pro přenos Aptima. Po zpracování kapalného vzorku Pap s roztokem PreservCyt pomocí procesoru ThinPrep 2000 byl vzorek převeden do soupravy pro přenos vzorků Aptima k testování pomocí testu Aptima GC.

Citlivost a specifita testu Aptima GC pro kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt byly vypočteny porovnáním výsledků s infikovaným stavem pacienta. Algoritmus obsahoval výsledky testu Aptima Combo 2 a testu Aptima GC ze vzorků endocervikálních stěrů. Oba referenční testy NAAT musely být ke stanovení infikovaného stavu pacienta pozitivní. Ke stanovení neinfikovaného stavu pacienta musel být alespoň jeden referenční test NAAT negativní. Jeden nejednoznačný výsledek získaný z referenčního testu NAAT, byl pro účely výpočtu účinnosti považován za nesouhlasný s investigačním testem, a z toho důvodu byl infikovaný stav pacienta kategorizován jako neinfikovaný (n = 1). Tabulka 7e shrnuje frekvenci výsledků testu pro vzorky endocervikálních stěrů testovaných pomocí testů Aptima Combo 2 a Aptima GC.

Tabulka 5a uvádí citlivost a specifitu testu Aptima GC podle symptomatického stavu a celkově. Celková citlivost byla 92,3 % (12/13). U symptomatických a asymptomatických pacientů byla citlivost 100 % (7/7), resp. 83,3 % (5/6). Celková specifita byla 99,8 % (1630/1634). U symptomatických a asymptomatických pacientů byla specifita 99,4 % (350/352), resp. 99,8 % (1280/1282).

Tabulka 6a uvádí citlivost a specifitu testu Aptima GC podle odběrného pracoviště a celkově. Citlivost se pohybovala od 80,0 % do 100 %. Specifita se pohybovala od 99,0 % do 100 %.

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

Použitý prostředek pro odběr cervikálních vzorků	Místo klinického odběru						Celkem
	1	2	3	4	5	6	
Špachtle / cytologický kartáček	0	124	475	287	57	364	1307
Prostředek typu metlička	100	0	0	0	240	0	340

Tabulka 5a: Citlivost a specifická testu Aptima GC vzhledem k infikovanému stavu pacienta a podle symptomatického stavu a celkově pro kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Symptom	Výsledek testu Aptima GC na roztoku PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Citlivost (%) (95 % CI)	Specifická (%) (95 % CI)
Symptomatický	Pozitivní	7	0	0	2	100 (7/7) (59,0–100)	99,4 (350/352) (98,0–99,9)
	Negativní	0	0	0	350		
	Celkem	7	0	0	352		
Asymptomatický	Pozitivní	5	0	1 ¹	1	83,3 (5/6) (35,9–99,6)	99,8 (1280/1282) (99,4–100)
	Negativní	1	0	5	1275		
	Celkem	6	0	6	1276		
Vše	Pozitivní	12	0	1	3	92,3 (12/13) (64,0–99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4–99,9)
	Negativní	1	0	5	1625		
	Celkem	13	0	6	1628		

+/+ = Pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima GC.
 +/- = Pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima GC.
 -/+ = Negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima GC.
 -/- = Negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima GC.
¹Jeden vzorek měl nejednoznačný výsledek: Nejednoznačný výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima GC.

Tabulka 6: Citlivost, specifická a prediktivní hodnoty testu Aptima GC vzhledem k infikovanému stavu pacienta a podle klinického pracoviště a celkově pro stěr z mužské uretry, mužskou moč, ženský endocervikální stěr, ženskou moč, vaginální stěr odebraný asymptomatickou pacientkou a lékařsky odebraný vaginální stěr

Vzorek	Pracoviště	N	TP	FP	TN	FN	Prev. (%)	Citlivost (95 % CI)	Specifická (95 % CI)	PPV (%)	NPV (%)	
Stěr	1	145	49	0	96	0	33,8	100 (92,7–100)	100 (96,2–100)	100	100	
	2	177	66	8	102	1	37,9	98,5 (92,0–100)	92,7 (86,2–96,8)	89,2	99,0	
	3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
	4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
	5	49	7	1	41	0	14,3	100 (59,0–100)	97,6 (87,4–99,9)	87,5	100	
	6	150	37	1	112	0	24,7	100 (90,5–100)	99,1 (95,2–100)	97,4	100	
	7	54	12	0	42	0	22,2	100 (73,5–100)	100 (91,6–100)	100	100	
	8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
	Vše	575	171	10	393	1	29,9	99,4 (96,8–100)	97,5 (95,5–98,8)	94,5	99,7	
Muži	Stěr	1	252	53	1	198	0	21,0	100 (93,3–100)	99,5 (97,2–100)	98,1	100
		2	353	68	3	280	2	19,8	97,1 (90,1–99,7)	98,9 (96,9–99,8)	95,8	99,3
		3	4	0	0	4	0	0,0	N/A	100 (39,8–100)	N/A	100
		4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	Moč	5	200	8	3	189	0	4,0	100 (63,1–100)	98,4 (95,5–99,7)	72,7	100
		6	305	39	2	264	0	12,8	100 (91,0–100)	99,2 (97,3–99,9)	95,1	100
		7	207	12	0	195	0	5,8	100 (73,5–100)	100 (98,1–100)	100	100
		8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		Vše	1321	180	9	1130	2	13,8	98,9 (96,1–99,9)	99,2 (98,5–99,6)	95,2	99,8

Tabulka 6: Citlivost, specifická a prediktivní hodnoty testu Aptima GC vzhledem k infikovanému stavu pacienta a podle klinického pracoviště a celkově pro stěr z mužské uretry, mužskou moč, ženský endocervikální stěr, ženskou moč, vaginální stěr odebraný asymptomatickou pacientkou a lékařsky odebraný vaginální stěr (pokračování)

Vzorek	Pracoviště	N	TP	FP	TN	FN	Prev. (%)	Citlivost (95 % CI)	Specifická (95 % CI)	PPV (%)	NPV (%)	
Stěr	1	226	12	2	212	0	5,3	100 (73,5–100)	99,1 (96,7–99,9)	85,7	100	
	2	197	29	3	164	1	15,2	96,7 (82,8–99,9)	98,2 (94,8–99,6)	90,6	99,4	
	3	114	4	1	109	0	3,5	100 (39,8–100)	99,1 (95,0–100)	80,0	100	
	4	260	5	1	254	0	1,9	100 (47,8–100)	99,6 (97,8–100)	83,3	100	
	5	199	2	1	196	0	1,0	100 (15,8–100)	99,5 (97,2–100)	66,7	100	
	6	294	19	5	269	1	6,8	95,0 (75,1–99,9)	98,2 (95,8–99,4)	79,2	99,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0	N/A	100 (96,4–100)	N/A	100	
	8	48	1	0	47	0	2,1	100 (2,5–100)	100 (92,5–100)	100	100	
	Vše	1440	72	13	1353	2	5,1	97,3 (90,6–99,7)	99,0 (98,4–99,5)	84,7	99,9	
Ženy	1	227	11	2	213	1	5,3	91,7 (61,5–99,8)	99,1 (96,7–99,9)	84,6	99,5	
	2	198	30	0	167	1	15,7	96,8 (83,3–99,9)	100 (97,8–100)	100	99,4	
	3	113	4	0	109	0	3,5	100 (39,8–100)	100 (96,7–100)	100	100	
	4	265	5	0	260	0	1,9	100 (47,8–100)	100 (98,6–100)	100	100	
	5	199	2	0	197	0	1,0	100 (15,8–100)	100 (98,1–100)	100	100	
	6	296	16	1	275	4	6,8	80,0 (56,3–94,3)	99,6 (98,0–100)	94,1	98,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0	N/A	100 (96,4–100)	N/A	100	
	8	49	1	0	48	0	2,0	100 (2,5–100)	100 (92,6–100)	100	100	
	Vše	1449	69	3	1371	6	5,2	92,0 (83,4–97,0)	99,8 (99,4–100)	95,8	99,6	
Odebráno pacientkou	Vaginální stěr (asymptomatický)	1	70	5	1	64	0	7,1	100 (47,8–100)	98,5 (91,7–100)	83,3	100
	2	46	7	1	38	0	15,2	100 (59,0–100)	97,4 (86,5–99,9)	87,5	100	
	3	45	2	0	43	0	4,4	100 (15,8–100)	100 (91,8–100)	100	100	
	4	152	1	0	151	0	0,7	100 (2,5–100)	100 (97,6–100)	100	100	
	5	130	1	0	129	0	0,8	100 (2,5–100)	100 (97,2–100)	100	100	
	6	75	5	2	68	0	6,7	100 (47,8–100)	97,1 (90,1–99,7)	71,4	100	
	7	68	0	0	68	0	0,0	N/A	100 (94,7–100)	N/A	100	
	8	43	0	0	43	0	0,0	N/A	100 (91,8–100)	N/A	100	
	Vše	629	21	4	604	0	3,3	100 (83,9–100)	99,3 (98,3–99,8)	84,0	100	
Odebráno lékařem	Vaginální stěr	1	227	12	2	213	0	5,3	100 (73,5–100)	99,1 (96,7–99,9)	85,7	100
	2	197	30	3	163	1	15,7	96,8 (83,3–99,9)	98,2 (94,8–99,6)	90,9	99,4	
	3	113	4	0	109	0	3,5	100 (39,8–100)	100 (96,7–100)	100	100	
	4	263	5	3	255	0	1,9	100 (47,8–100)	98,8 (96,6–99,8)	62,5	100	
	5	199	2	0	197	0	1,0	100 (15,8–100)	100 (98,1–100)	100	100	
	6	295	19	3	272	1	6,8	95,0 (75,1–99,9)	98,9 (96,8–99,8)	86,4	99,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0	N/A	100 (96,4–100)	N/A	100	
	8	50	1	0	49	0	2,0	100 (2,5–100)	100 (92,7–100)	100	100	
	Vše	1446	73	11	1360	2	5,2	97,3 (90,7–99,7)	99,2 (98,6–99,6)	86,9	99,9	

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

Tabulka 6a: Citlivost, specifická testu a prediktivní hodnoty testu Aptima GC vzhledem k infikovanému stavu pacienta a podle klinického pracoviště a celkově pro kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Pracoviště	Výsledky testu Aptima GC pro roztok PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Citlivost (%) (95 % CI)	Specifická (%) (95 % CI)	PPV (%)	NPV (%)
1	Pozitivní	5	0	0	0	5,0	100 (5/5) (47,8–100)	100 (95/95) (96,2–100)	100	100
	Negativní	0	0	0	95					
	Celkem	5	0	0	95					
2	Pozitivní	1	0	0	0	0,8	100 (1/1) (2,5–100)	100 (123/123) (97,0–100)	100	100
	Negativní	0	0	0	123					
	Celkem	1	0	0	123					
3	Pozitivní	4	0	0	0	1,1	80,0 (4/5) (28,4–99,5)	100 (470/470) (99,2–100)	100	99,8
	Negativní	1	0	0	470					
	Celkem	5	0	0	470					
4	Pozitivní	1	0	0	3	0,3	100 (1/1) (2,5–100)	99,0 (283/286) (97,0–99,8)	25,0	100
	Negativní	0	0	3	280					
	Celkem	1	0	3	283					
5	Pozitivní	0	0	0	0	0,0	N/A	100 (297/297) (98,8–100)	N/A	100
	Negativní	0	0	0	297					
	Celkem	0	0	0	297					
6	Pozitivní	1	0	1 ¹	0	0,3	100 (1/1) (2,5–100)	99,7 (362/363) (98,5–100)	50,0	100
	Negativní	0	0	2	360					
	Celkem	1	0	3	360					
VŠE	Pozitivní	12	0	1	3	0,8	92,3 (12/13) (64,0–99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4–99,9)	75,0	99,9
	Negativní	1	0	5	1625					
	Celkem	13	0	6	1628					

N/A = neuplatňuje se.

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

+/- = Pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima GC.

-/+ = Negativní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima GC.

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

¹Jeden vzorek měl nejednoznačný výsledek: Nejednoznačný výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima Combo 2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu Aptima GC.

Tabulka 7a: Výsledky uretrálních stěrů od symptomatických subjektů infikovaných nebo neinfikovaných *N. gonorrhoeae* podle infikovaného stavu pacienta

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

N/A = vzorky nebyly získány nebo nebyly dostupné pro testování. Symbol rovníčka (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitelný výsledek při opakovaném testování. **MS** = Uretrální stěry od symptomatických mužů, **MU** = mužská moč.

Tabulka 7b: Výsledky mužské moči od subjektů infikovaných nebo neinfikovaných *N. gonorrhoeae* podle infikovaného stavu pacienta

Infekční stav pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC	Stav symptomů		Celkem
	MS	MU	MS	MU	MU	Sympt.	Asympt.	
Infikován	+	+	+	+	+	164	8	172
Infikován	+	+	+	+	+	1	0	1
Infikován	+	+	+	-	+	3	1	4
Infikován	+	+	=	+	+	1	0	1
Infikován	+	-	+	+	+	2	0	2
Infikován	+	-	+	-	-	1	1	2
Neinfikován	+	+	-	-	+	0	1	1
Neinfikován	+	-	-	-	-	2	13	15
Neinfikován	+	-	-	-	-	1	0	1
Neinfikován	-	+	-	-	+	1	0	1
Neinfikován	-	+	-	-	-	0	1	1
Neinfikován	-	-	+	-	-	1	1	2
Neinfikován	-	-	-	+	-	2	2	4
Neinfikován	-	-	-	-	+	3	1	4
Neinfikován	-	-	-	-	-	2	1	3
Neinfikován	-	-	-	-	+	0	3	3
Neinfikován	-	-	-	-	-	386	691	1077
Neinfikován	-	-	-	-	-	1	2	3
Neinfikován	-	-	-	N/A	-	1	4	5
Neinfikován	-	-	-	=	-	1	4	5
Neinfikován	-	-	=	-	-	1	1	2
Neinfikován	-	=	-	-	-	0	1	1
Neinfikován	N/A	-	-	-	-	0	1	1
Neinfikován	=	-	-	-	-	2	6	8
Neinfikován	=	-	-	-	-	0	2	2
Celkem						576	745	1321

Sympt. = symptomatický, **Asympt.** = asymptomatický. **N/A** = vzorky nebyly získány nebo nebyly dostupné pro testování. Symbol rovníčka (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitelný výsledek při opakovaném testování. **MS** = uretrální stěry od mužů, **MU** = mužská moč.

Tabulka 7c: Výsledky ženských endocervikálních stěrů a moči od subjektů infikovaných nebo neinfikovaných *N. gonorrhoeae* podle infikovaného stavu pacienta

Infekční stav pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC		Stav symptomů		Celkem
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Sympt.	Asympt.	
Infikován	+	+	+	+	+	+	43	16	59
Infikován	+	+	+	+	+	-	2	0	2
Infikován	+	+	+	-	+	+	2	1	3
Infikován	+	+	+	-	+	-	0	1	1
Infikován	+	+	+	N/A	+	+	1	0	1
Infikován	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infikován	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infikován	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infikován	+	-	+	-	+	+	0	1	1
Infikován	+	-	+	-	+	-	2	0	2
Infikován	-	+	+	+	-	+	1	0	1
Infikován	-	+	-	+	-	+	0	1	1
Infikován	-	+	-	+	=	+	0	1	1
Infikován	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Neinfikován	+	-	-	-	+	-	4	1	5
Neinfikován	+	-	-	-	-	-	1	0	1
Neinfikován	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Neinfikován	-	-	+	-	+	-	1	0	1
Neinfikován	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Neinfikován	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Neinfikován	-	-	-	-	+	-	1	2	3
Neinfikován	-	-	-	-	-	+	1	0	1
Neinfikován	-	-	-	-	-	-	718	589	1307
Neinfikován	-	-	-	-	=	-	1	0	1
Neinfikován	-	-	-	N/A	-	-	2	3	5
Neinfikován	-	-	-	=	-	-	11	11	22
Neinfikován	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Neinfikován	-	N/A	-	-	-	N/A	1	1	2
Neinfikován	N/A	-	-	-	N/A	-	5	4	9
Neinfikován	=	-	-	-	+	-	1	1	2
Celkem							811	640	1451

Sympt. = symptomatický, **Asympt.** = asymptomatický. **N/A** = vzorky nebyly získány nebo nebyly dostupné pro testování. Symbol rovníčka (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitelný výsledek při opakovaném testování. **FS** = ženský endocervikální stěr, **FU** = ženská moč.

Tabulka 7d: Výsledky vaginálních stěrů od subjektů infikovaných nebo neinfikovaných *N. gonorrhoeae* podle infikovaného stavu pacientky

Infekční stav pacienta	NAAT 1 (Test Aptima Combo 2)		NAAT 2		Test Aptima GC		Stav symptomů		Celkem
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infikován	+	+	+	+	+	+	43	15	58
Infikován	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infikován	+	+	+	+	-	-	1	0	1
Infikován	+	+	+	+	N/A	+	0	1	1
Infikován	+	+	+	-	+	+	2	2	4
Infikován	+	+	+	N/A	+	+	1	0	1
Infikován	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infikován	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infikován	+	-	+	+	+	+	1	0	1
Infikován	+	-	+	-	+	+	2	1	3
Infikován	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infikován	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infikován	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infikován	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Neinfikován	+	-	-	-	-	-	5	1	6
Neinfikován	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Neinfikován	-	-	+	-	+	+	1	0	1
Neinfikován	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Neinfikován	-	-	-	+	+	+	0	1	1
Neinfikován	-	-	-	+	-	-	2	1	3
Neinfikován	-	-	-	-	+	+	2	1	3
Neinfikován	-	-	-	-	+	-	3	1	4
Neinfikován	-	-	-	-	-	+	3	1	4
Neinfikován	-	-	-	-	-	-	696	577	1273
Neinfikován	-	-	-	-	-	N/A	0	1	1
Neinfikován	-	-	-	-	-	=	0	1	1
Neinfikován	-	-	-	-	N/A	-	16	9	25
Neinfikován	-	-	-	-	N/A	N/A	1	0	1
Neinfikován	-	-	-	N/A	-	-	2	2	4
Neinfikován	-	-	-	N/A	N/A	-	0	1	1
Neinfikován	-	-	-	=	-	-	11	10	21
Neinfikován	-	-	-	=	-	N/A	0	1	1
Neinfikován	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Neinfikován	-	N/A	-	-	-	-	0	1	1
Neinfikován	-	N/A	-	-	N/A	N/A	1	0	1
Neinfikován	N/A	-	-	-	-	-	5	4	9
Neinfikován	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Celkem							811	640	1451

Sympt. = symptomatický, **Asympt.** = asymptomatický. **N/A** = vzorky nebyly získány nebo nebyly dostupné pro testování. Symbol rovníčka (=) znamená nejednoznačný nebo neurčitelný výsledek při opakovaném testování. **FS** = ženský endocervikální stěr, **FU** = ženská moč, **PVS** = vaginální stěr odebraný pacientkou, **CVS** = vaginální stěr odebraný lékařem.

Tabulka 7e: Klinická studie kapalných Pap vzorků v roztoku PreservCyt – výsledky infekčních stavů pacientů z hlediska *N. gonorrhoeae*

Infekční stav pacienta	Endocervikální stěr		Stav symptomů	
	Test Aptima Combo 2	Test Aptima GC	Symptomatický	Asymptomatický
Infikován	Pozitivní	Pozitivní	7	6
Neinfikován	Negativní	Negativní	352	1276
Neinfikován	Negativní	Pozitivní	0	5
Neinfikován	Nejednoznačný	Pozitivní	0	1
Celkem			359	1288

Distribuce RLU kontrol Aptima

Tabulka 8 uvádí distribuci RLU pro Aptima – pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT a Aptima – pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC ze všech testů Aptima GC probíhajících během studie klinických vzorků.

Tabulka 8: Distribuce RLU pro kontroly Aptima během studií klinických vzorků včetně endocervikálních a vaginálních stěrů, stěrů z mužské uretry, vzorků mužské a ženské moči a studií s kapalnými vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Kontrola	Statistika	RLU (x 1000)	
		Klinická studie se stěry a vzorky moči	Klinická studie s kapalnými vzorky Pap v roztoku PreservCyt
Pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT	N	193	218
	Průměr	5048	4561
	SD	1071	1295
	Maximum	6765	6791
	75. percentil	5763	5450
	Medián	5175	4859
	25. percentil	4645	3804
	Minimálně	229	158
Pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC	N	193	218
	Průměr	2,15	2,60
	SD	2,20	2,80
	Maximum	20	29
	75. percentil	2	3
	Medián	2	2
	25. percentil	1	2
	Minimálně	0	1

Shoda klinických vzorků

Shoda v systému Tigris DTS

Shoda mezi výsledky testu Aptima GC vygenerovanými v plně automatizovaném systému Tigris DTS a v poloautomatizovaných systémech DTS byla vyhodnocena testováním endocervikálního stěru, mužského uretrálního stěru, mužské a ženské moči, vaginálního stěru a kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt. Každý z klinických vzorků byl testován jednotlivě pomocí testu Aptima GC v systému Tigris DTS a v systémech DTS ve společnosti Hologic. Pořadí testování nebylo randomizované. Vzorky, které se do studie měly zařadit, byly testovány v systému Tigris DTS a poté v systémech DTS.

Studie shody klinických vzorků – endocervikální stěr, stěr z mužské uretry, ženská a mužská moč, vaginální stěr a kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Ženské a mužské subjekty navštěvující oddělení venerologie (STD), plánování rodičovství a gynekologické/porodnické kliniky (OB/GYN) na osmi zeměpisně odlišných pracovištích s nízkou až vysokou prevalencí GC přispělo endocervikálním stěrem, stěrem z mužské uretry, mužskou a ženskou močí, vaginálním stěrem a kapalnými vzorky Pap v roztoku PreservCyt. Vzorky byly odesílány k testování přímo společnosti Hologic. Ve společnosti Hologic byly endocervikální stěry, stěry z mužské uretry, mužská a ženská moč nejprve screenovány pomocí testu Aptima Combo 2 v systému Tigris DTS. Vaginální stěry a kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt byly screenovány pomocí testu Aptima Combo 2 v systémech DTS. Vzorky s finálními neplatnými nebo nejednoznačnými výsledky nebyly zařazeny do studie shody klinických vzorků Aptima GC.

Ke srovnávacímu testování na systému Tigris DTS a systémech DTS testem Aptima GC bylo vybráno sto dvacet devět ženských stěrů (70 endocervikálních a 59 vaginálních), 133 mužských uretrálních stěrů, 72 vzorků ženské moči, 130 vzorků mužské moči a 51 kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt s pozitivními a negativními výsledky v testu Aptima Combo 2 pro GC. Většina vzorků (88 ženských stěrů, 93 mužských stěrů, 47 vzorků ženské moči, 70 vzorků mužské moči a 34 kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt) zahrnutých do testování pocházela od symptomatických jedinců. Vzorky s počátečními neplatnými nebo nejednoznačnými výsledky byly opětovně testovány na stejném systému, na němž byl získán první výsledek. Tři vzorky ženské moči, 1 vaginální stěr a 1 stěr z mužské uretry měly počáteční nejednoznačné výsledky na systémech DTS a po opětovném testování vykázaly všechny platné výsledky. Jeden mužský a 1 ženský vzorek moči měly neplatné výsledky na systému Tigris DTS a po opětovném testování byly oba výsledky platné.

Tabulka 9 uvádí pozitivní, negativní a celkové shody pro všechny spárované výsledky každého typu vzorku podle symptomatického stavu. Vzorky ženských stěrů (endocervikální i vaginální stěry) nejsou vyvážené z hlediska pozitivních a negativních vzorků od symptomatických subjektů, ale celková shoda pro symptomatické subjekty byla 100 %, pro asymptomatické subjekty byla 97,6 % (40/41) a pro „všechny“ (symptomatické a asymptomatické dohromady) byla celková shoda 99,2 % (128/129). U vzorků mužských uretrálních stěrů byla celková shoda pro symptomatické, asymptomatické a „všechny“ subjekty 100 %. U vzorků ženské moči byla celková shoda pro symptomatické subjekty 100 %, pro asymptomatické subjekty byla 96,0 % (24/25) a pro „všechny“ byla 98,6 % (71/72).

U vzorků mužské moči byla celková shoda pro symptomatické subjekty 98,6 % (69/70), pro asymptomatické subjekty byla 100 % a pro „všechny“ byla 99,2 % (129/130). U kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt byla celková shoda pro symptomatické, asymptomatické a „všechny“ subjekty 100 %. Vzhledem k relativně malému počtu vzorků od asymptomatických subjektů nemusí být možné vztáhnout tato zjištění obecně na provádění testu Aptima GC na systému Tigris DTS u vzorků od asymptomatických subjektů.

V tabulce 4 naleznete odhad účinnosti testu Aptima GC pro vzorky endocervikálních stěrů, vaginálních stěrů, stěrů z mužské uretry a vzorků mužské a ženské moči, a v tabulce 5a tytéž výsledky pro kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt testované v systémech DTS. Vzhledem ke zjištěným hodnotám shody se očekává, že odhady klinické účinnosti systému Tigris DTS budou pro endocervikální stěry, vaginální stěry, mužské uretrální stěry, vzorky mužské a ženské moči a kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt podobné.

Tabulka 9: Studie shody klinického vzorku: Pozitivní, negativní a celková shoda podle symptomatického stavu

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

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

*Endocervikální a vaginální stěry dohromady.

¹Jeden nesoulad u vaginálních stěrů.

Shoda klinických vzorků na systému Panther

Moč byla vybrána za reprezentativní typ vzorku ke stanovení rovnocennosti testu Aptima GC na systému Tigris DTS a Panther vzhledem k tomu, že moč vykazuje nejvyšší variabilitu výsledků ze všech typů vzorků, které se s testem Aptima GC používají. Tudíž by vysoká míra shody mezi vzorky moči naznačovala, že vysokou shodu lze očekávat i u všech dalších typů vzorků.

Z klinických vzorků moči byly vytvořeny panely: negativní členy panelu se vytvořily pomocí jednotlivých vzorků moči negativních na GC a pozitivní členy panelu se vytvořily pomocí jednotlivých vzorků moči přirozeně infikovaných a pozitivních na GC, které byly nařaděny jednotlivými vzorky moči od odpovídajícího pohlaví tak, aby se dosáhlo požadovaných cílových hodnot RLU. Panely se měřily na třech testovacích pracovištích (dvě externí, jedno interní).

Tabulka 10: Shoda mezi systémy Tigris DTS a Panther podle panelů vzorků moči

Systém Panther	Systém Tigris			
	Negativní	Nejednoznačný	Slabě pozitivní	Pozitivní
Negativní	360	0	0	0
Nejednoznačný	0	0	0	0
Slabě pozitivní	0	0	120	9
Pozitivní	0	0	18	198
Celkem	360	0	138	207
Shoda (%)	100 (360/360)	0 (0/0)	92,2 (318/345)	
95 % CI*	(96,9–100)	–	(85,8–95,8)	

*Vypočteno pomocí skórovací metody na základě jedinečného počtu testovaných vzorků.

Negativní shoda mezi systémy Tigris DTS a Panther byla 100 % pro všechny vzorky negativní na GC. Při kategorizaci podle rozsahu RLU byla pozitivní shoda 92,2 %, avšak test Aptima GC v systému Tigris DTS i v systému Panther správně označil všechny členy panelu pozitivní na GC jako pozitivní. Shoda mezi systémy Tigris DTS a Panther při kvalitativní detekci GC ve vzorcích moči je tudíž 100 %. Vzhledem k použití testu Aptima GC jako kvalitativní metody detekce GC v klinických vzorcích lze usoudit, že účinnost testu u těchto dvou systémů je podobná.

V tabulce 4 naleznete odhad účinnosti testu Aptima GC pro vzorky endocervikálních stěrů, vaginálních stěrů, stěrů z mužské uretry a vzorků mužské a ženské moči, a v tabulce 5a tytéž výsledky pro kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt testované v systémech DTS. Odhady klinické účinnosti pro systém Panther se všemi typy vzorků budou nejspíše podobné vzhledem ke zjištěné shodě v obou studiích shody pro systém Tigris DTS a ve studii shody pro systém Panther.

Analytická účinnost

Analytická citlivost (DTS)

Analytická citlivost (limit detekce) pro *N. gonorrhoeae* byla stanovena přímým srovnáním ředění 51 různých klinických izolátů v kultuře a v testu Aptima GC. Analytická citlivost uváděná pro test je 50 CFU/test (362 CFU/stěr, 250 CFU/ml moči a 487,5 CFU/ml roztoku PreservCyt s kapalnými vzorky Pap).

Studie rovnocennosti analytické citlivosti (Tigris)

Byly připraveny panely citlivosti v poolu endocervikálních vzorků, poolu vaginálních vzorků, poolů vzorků moči a poolu vzorků Pap v roztoku PreservCyt na GC 250 fg/test rRNA a testováno bylo 60 replikátů v systému Tigris DTS. Procentuální pozitivita (95 % CI) v systému Tigris DTS pro vzorek endocervikálního stěru byla 100 % (95,1–100), pro vzorek vaginálního stěru byla 100 % (95,1–100), pro vzorek moči byla 100 % (95,1–100) a pro kapalný vzorek Pap v roztoku PreservCyt byla 100 % (95,1–100).

Klinická studie s obohacným panelem GC rRNA (DTS a Tigris)

Studie klinického panelu GC obohaceného rRNA hodnotila shodu mezi těmito dvěma systémy s použitím šesti klinických panelů GC připravených společností Hologic, které byly obohaceny 0 až 250 000 fg rRNA / test GC. Klinické panely GC byly vytvořené ze vzorků endocervikálních stěrů, vaginálních stěrů, uretrálních stěrů, mužské moči, ženské moči a kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt, které vykazovaly negativní výsledky z testu Aptima GC v systémech DTS při testování společností Hologic. Negativní vzorky byly smíšeny podle typu vzorku, obohaceny nebo neobohaceny pomocí GC rRNA a alikvotovány jako replikáty každého členu panelu. Replikáty každého ze 6členných panelů s různými úrovněmi obohacení rRNA byly kombinovány, aby se vytvořil jeden klinický panel pro každý typ vzorku. Každý panel obsahoval celkem 132 replikátů.

Počáteční data z mužské a ženské moči naznačují, že některé členy panelů, které obsahovaly rRNA pod úrovní uváděné analytické citlivosti, poskytovaly neočekávané negativní výsledky na systému Tigris DTS. Byly provedeny dvě následující studie, které prokázaly a potvrdily shodu s očekávanými výsledky u obohacených panelů mužské nebo ženské moči. Původní návrh studie kombinoval negativní vzorky do jediného hlavního poolu. Návrh následující studie pro vzorky mužské a ženské moči byl upraven. Vzorky byly alikvotně rozdělené do potvrzených negativních minipoolů, z nichž byly vytvořené pozitivní a negativní panely. Pro každý panel bylo vytvořeno sto třicet osm replikátů.

Tabulka 11 ukazuje procentuální shodu pro každou hladinu rRNA v panelech endocervikálních stěrů, vaginálních stěrů, uretrálních stěrů, mužské moči, ženské moči a kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt a také očekávané výsledky GC pro systém Tigris DTS a systémy DTS. Koncentrace se pohybovaly od 1 log pod až po 3 log nad 250 fg rRNA/test pro GC. V tabulce 11 jsou rovněž uvedené celkové procentuální shody pro studii klinických panelů mezi systémem Tigris DTS a systémy DTS.

Tabulka 11: Studie shody u klinických panelů obohacených GC rRNA

Vzorek	Člen panelu	Koncentrace (fg rRNA/test)	Replikáty	Shoda % Tigris	Shoda % DTS	Celková % shoda mezi systémy Tigris a DTS (95 % CI)
Endocervikální	Žádný cíl	0	12	100	100	100 (97,2–100)
	Velmi nízká	25	30	100	100	
	Nízká	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoká	250 000	30	100	100	
Stěr	Žádný cíl	0	12	100	100	100 (97,2–100)
	Velmi nízká	25	29*	100	100	
	Nízká	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoká	250 000	30	100	100	
Uretrální	Žádný cíl	0	12	100	100	100 (97,2–100)
	Velmi nízká	25	30	100	100	
	Nízká	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoká	250 000	30	100	100	
První studie	Žádný cíl	0	12	100	100	91,7 (85,6-95,8)
	Velmi nízká	25	30	63,3 (19/30)	100	
	Nízká	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoká	250 000	30	100	100	
Mužská moč	Žádný cíl	0	18	100	100	100 (97,4–100)
	Velmi nízká	25	30	100	100	
	Nízká	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoká	250 000	30	100	100	
Následná studie 2	Žádný cíl	0	18	100	100	100 (97,4–100)
	Velmi nízká	25	30	100	100	
	Nízká	250	30	100	100	
	Střední	2 500	30	100	100	
	Vysoká	250 000	30	100	100	

*Nebylo testováno na obou systémech z důvodu nedostatečného objemu vzorku

Tabulka 11: Studie shody u klinických panelů obohacených GC rRNA (pokračování)

Vzorek	Člen panelu	Koncentrace (fg rRNA/test)	Replikáty	Shoda % Tigris	Shoda % DTS	Celková % shoda mezi systémy Tigris a DTS (95 % CI)	
První studie	Žádný cíl	0	12	100	100	75,8 (67,5–82,8)	
	Velmi nízká	25	30	13,3 (4/30)	100		
	Nízká	250	30	80 (24/30)	100		
	Střední	2 500	30	100	100		
	Vysoká	250 000	30	100	100		
Ženská moč	Následná studie 1	Žádný cíl	0	18	100	99,3 (96,0–100)	
		Velmi nízká	25	30	96,7 (29/30)		100
		Nízká	250	30	100		100
		Střední	2 500	30	100		100
		Vysoká	250 000	30	100		100
Následná studie 2	Žádný cíl	0	18	100	100	97,8 (93,8–99,5)	
	Velmi nízká	25	30	90 (27/30)	100		
	Nízká	250	30	100	100		
	Střední	2 500	30	100	100		
	Vysoká	250 000	30	100	100		
Kapalný Pap v roztoku PreservCyt	Žádný cíl	0	12	100	100	100 (97,2–100)	
	Velmi nízká	25	30	100	100		
	Nízká	250	30	100	100		
	Střední	2 500	30	100	100		
	Vysoká	250 000	30	100	100		

*Nebylo testováno na obou systémech z důvodu nedostatečného objemu vzorku

Studie shody obohacených klinických panelů (Tigris a Panther)

Jednotlivé negativní vzorky moči byly obohaceny s GC, aby se vytvořil panel 120 pozitivních vzorků GC. Ke GC pozitivním členům panelu byly naočkovány organismy při koncentraci 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml nebo 1250 CFU/ml (25 fg/test, 250 fg/test nebo 2500 fg/test). Dále bylo odebráno 120 GC negativních vzorků moči. Pozitivní a negativní panely byly testovány na třech systémech Panther a třech systémech Tigris DTS. Pozitivní procentuální shoda mezi systémem Panther a systémem Tigris DTS byla 100 % se spodním 95 % intervalem spolehlivosti 98,9. Negativní procentuální shoda mezi systémem Panther a systémem Tigris DTS byla 100 % se spodním 95 % intervalem spolehlivosti 98,9. Výsledky studie jsou uvedeny v tabulce 12.

Tabulka 12: Klinická studie shody s označeným panelem: Shoda s očekávanými výsledky GC

Člen panelu	Koncentrace		Replikáty	Tigris % shoda	Panther % shoda
	CFU/ml	fg/test			
Velmi nízká pozitivní	12,5	25	117	100	100
Slabě pozitivní	125	250	120	100	100
Středně pozitivní	1 250	2500	120	100	100
Negativní	0	0	360	100	100

Celková pozitivní procentuální shoda mezi systémy Tigris DTS a Panther (95 % CI): 100 % (98,9–100).

Celková negativní procentuální shoda mezi systémy Tigris DTS a Panther (95 % CI): 100 % (98,9–100).

Studie analytické citlivosti (Panther)

Analytická citlivost testu Aptima GC byla testována pomocí tří reprezentativních typů vzorků. Těmi byly moč, PreservCyt, vaginální stěry a STM (jako kontrola). Do poolů těchto tří matic vzorků byla přidána GC rRNA v následujících koncentracích: 25 fg/test a 250 fg/test (rRNA ekvivalenty 12,5 CFU/ml a 125 CFU/ml). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA : RNA /buňka každého mikroorganismu. Tyto panely byly testovány ve třech přístrojích Panther za použití dvou šarží reagensů v 60 replikátech. Byla vypočítána pozitivní shoda s očekávaným výsledkem. Shoda s očekávanými výsledky byla 100 % (95 % CI 95,7–100 %) u všech panelů moči, 100 % (95 % CI 95,7–100 %) u všech panelů kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt, 100 % (95 % CI 95,7–100 %) pro všechny panely vaginálních stěrů a 100 % (95 % CI 96,1–100 %) u všech panelů STM. Analytická citlivost testu je 125 CFU/ml

Analytická specifita

Pomocí testu Aptima GC bylo hodnoceno celkem 154 izolátů kultur. Izoláty zahrnovaly 86 organismů, které mohou být izolovány z urogenitálního traktu, a 68 dalších organismů, které představují fylogenetický průřez organismů. Testované organismy zahrnovaly bakterie, houby, kvasinky, parazity a viry. Všechny organismy kromě *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* a virů byly testovány při koncentraci $1,0 \times 10^6$ buněk/test v médiu pro přepravu moči KOVA-Trol a 60 organismů bylo testováno v médiu pro přepravu stěrů. Organismy Chlamydia a Neisseria byly testovány v médiu s roztokem PreservCyt. *C. psittaci* (VR601) byl testován při koncentraci $8,0 \times 10^4$ buněk/test a *C. psittaci* VR125 byl testován při koncentraci $1,0 \times 10^5$ buněk/test. *C. pneumoniae* byl testován při koncentraci $4,0 \times 10^3$ buněk/test a *U. urealyticum* byl testován při koncentraci $6,7 \times 10^6$ buněk/test. Viry byly testovány následovně: (A) herpes simplex virus I: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) herpes simplex virus II: $6,0 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (c) lidský papilomavirus 16: $2,9 \times 10^6$ DNA kopií/test a (d) cytomegalovirus: $4,8 \times 10^5$ buněk/test. Tabulka 13 uvádí seznam testovaných organismů.

Tabulka 13: Analytická specifická

Organismus	Organismus	Organismus
<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria mucosa</i> (3)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	<i>Neisseria sicca</i> (3)
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria subflava</i> (14)
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria perflava</i>
<i>Actinomyces pyogenes</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Paracoccus denitrificans</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Herpes simplex virus I	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Herpes simplex virus II	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Lidský papilomavirus 16	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Kingella dentrificans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bakteriodes ureolyticus</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Bifidobacterium brevi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus jensonii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella pneumophila</i> (2)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida parapsilóza</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> séro skupina A	<i>Streptococcus mutans</i>
Cytomegalovirus	<i>N. meningitidis</i> séro skupina B	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>N. meningitidis</i> séro skupina C (4)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Derxia gummosa</i>	<i>N. meningitidis</i> séro skupina D	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>N. meningitidis</i> séro skupina Y	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>N. meningitidis</i> séro skupina 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) = počet testovaných kmenů.

Všechny testované organismy vykázaly v testu Aptima GC negativní výsledek.

Studie rovnocennosti analytické specifity

U amplifikačního testu nukleových kyselin je analytická specifita vzhledem k jednotlivým organismům spíše určována chemií testu (např. oligonukleotidovými sekvencemi) než platformou. Jelikož reagentie pro test Aptima GC jsou totožné mezi systémem Panther, Tigris DTS a systémy DTS, experimenty s analytickou specifikou v systému Panther byly navrženy tak, aby se soustředily na nejnáročnější izoláty kultury. Tyto organismy zahrnovaly ty, o kterých je známo, že zkříženě reagují v jiných amplifikačních testech. Dvacet pět (25) izolátů kultur bylo vybráno z panelu organismů v tabulce 13, včetně 17 organismů, které jsou nejbližší příbuzné s GC. Všechny testované organismy vykázaly negativní výsledky.

Interferující látky

Následující interferující látky byly jednotlivě přidány do vzorků stěru a kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt a/nebo vzorků moči: 10 % krev, antikoncepční gel, spermicid, zvlhčovací krém, hemoroidní anestetikum, tělový olej, pudr, antifungální krém, vaginální lubrikanty, ženský sprej a leukocyty ($1,0 \times 10^6$ buněk/ml). Následující interferující látky byly jednotlivě přidány standardním přídatkem (spikováním) do vzorků moči: 30 % krev, analyty moči, bílkoviny, glukóza, ketony, bilirubin, dusičnan, urobilinogen, pH 4 (kyselé), pH 9 (alkalické), leukocyty ($1,0 \times 10^6$ buněk/ml), buněčné fragmenty, vitaminy, minerály, acetaminofen, aspirin a ibuprofen. Všechny byly testovány na potenciální interferenci s testem v nepřítomnosti a přítomnosti GC v odhadnutém ekvivalentu rRNA 50 GC buněk/test (250 fg/test). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA : RNA / buňku každého organismu.

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

Studie ekvivalence interferujících látek

Krev, která se běžně vyskytuje u urogenitálních vzorků, může interferovat s některými amplifikačními testy. Plná krev byla použita k určení stupně interferencí krve na systému Panther s ohledem na tento potenciální interferent. Čerstvá krev byla přidána do klinických skupin vzorků vaginálních stěrů, následně zpracovaných kapalných Pap vzorků v roztoku PreservCyt nebo vzorků moči a poté byla testována z hlediska potenciální interference testu za přítomnosti a nepřítomnosti cíle GC. Jako cílová koncentrace se použil odhadovaný rRNA ekvivalent 125 GC CFU/ml (250 fg/test), jelikož tato hladina představuje analytickou citlivost testu. Vzorky byly testovány v systému Panther. Všechny vzorky obsahující cílovou nukleovou kyselinu byly pozitivní při testování na úrovni 10 % (obj./obj.) krve ve vzorku ze stěrů nebo v kapalných vzorcích Pap v roztoku PreservCyt nebo 30 % (obj./obj.) krve v moči. Všechny vzorky, které neobsahovaly cíl, byly správně identifikovány jako negativní. Krev přidaná do vzorků stěrů, v roztoku PreservCyt a vzorků moči v mnohem vyšších koncentracích, než se očekávalo při normálním odběru vzorků, výsledky systému Panther neovlivnila.

Výtěžnost

Ke vzorkům obsahujícím rRNA ekvivalentní přibližně 50 GC buňkám (250 fg) byly přidány *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides fragilis* a *Staphylococcus epidermidis* ($1,0 \times 10^6$ buněk/test). Tyto přídatky při použití testu Aptima GC neinterferovaly s amplifikací ani detekcí GC rRNA.

Studie stability vzorku

A. Vzorky stěrů a moči

Data k podpoře doporučených podmínek přepravy a skladování vzorků endocervikálních, uretrálních a vaginálních stěrů byla vytvořena směsnými vzorky negativních stěrů. Poolované vzorky byly obohaceny o GC s finální koncentrací přibližně 50 CFU v jedné reakci. Obohacené vzorky byly uchovány při teplotě 4 °C a 30 °C. Vzorky byly testovány v duplikátech ve dnech 0, 20, 77 a 117. Všechny podmínky testu byly pozitivní pro GC po celou dobu a pro všechny teploty.

Data k podpoře doporučených podmínek přepravy a skladování vzorků moči byla generována pomocí ženských a mužských negativních vzorků moči. Vzorky moči byly obohaceny o GC s finální koncentrací 100 CFU v jedné reakci. Vzorky byly uchovávány při teplotě 30 °C po dobu 24 hodin před přidáním do média pro přepravu moči (UTM). Vzorky UTM byly poté uchovávány při teplotě 4 °C a 30 °C a testovány v triplikátech ve dnech 1, 14, 32 a 35. Všechny replikáty byly pozitivní na GC u UTM vzorků uchovávaných při teplotě 4 °C a 30 °C.

B. Kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Data k podpoře doporučených podmínek přepravy a skladování kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt byla vytvořena s negativními zpracovanými a nezpracovanými kapalnými vzorky Pap. U nezpracovaných vzorků byly testovány čtyři pooly vzorků v roztoku PreservCyt poté, co byly skladovány v lahvičce s roztokem PreservCyt. Každý pool vzorků byl obohacen o 50–100 CFU GC/test, uchováván při teplotě 2 °C, 10 °C a 30 °C a poté testován ve výchozím stavu a ve dnech 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 a 36. Všechny obohacené vzorky byly pozitivní na GC v každém časovém bodě a při všech teplotách.

U zpracovaných vzorků se použily čtyři pooly vzorků v roztoku PreservCyt ke stanovení stability zpracovaných vzorků při teplotě 2 °C až 30 °C. Každý pool negativních vzorků byl obohacen o 50–100 CFU GC/test a poté testován ve výchozím stavu. Před zpracováním byly vzorky v roztoku PreservCyt skladovány při teplotě 30 °C po dobu sedmi (7) dní k simulaci časového prostoje mezi odběry vzorku, zpracováním Pap a odesláním do mikrobiologické laboratoře k testování. Po sedmi dnech při teplotě 30 °C byly 1ml alikvoty z každého poolu přeneseny do transferové zkumavky na vzorek Aptima a testovány ve výchozím stavu a poté uloženy do teploty 2 °C, 10 °C a 30 °C. Zpracované vzorky poté byly testovány po dobu 17 dní, kdy byly skladovány při teplotě 30 °C, a po dobu 36 dní, kdy byly skladovány při teplotě 2 °C až 10 °C. Všechny obohacené vzorky byly pozitivní na GC v každém časovém bodě a při všech teplotách.

C. Studie stability dodatečně zmrazených vzorků (při -20 °C)

Doporučené podmínky při skladování v zamrazeném stavu pro vzorky endocervikálního stěru, uretrálního stěru, vaginálního stěru, ženské moči, mužské moči a kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt v transportním médiu jsou mezi -20 °C a -70 °C, díky čemuž bude možné testovat až do 12 měsíců po odběru. Pomocí 90 negativních vzorků byla získána doplňující data pro každý vzorek. Z těchto vzorků bylo 30 obohaceno GC v koncentraci 50 CFU na jednu reakci, 30 vzorků bylo obohaceno v koncentraci 5 CFU na jednu reakci a 30 vzorků nebylo obohaceno. Vzorky v transportním médiu byly do 7 dní od odběru zamrazeny a poté se testovaly po 200 a 400 dnech. Vzorky splňovaly kritéria přijatelnosti s 95 % shodou s očekávanými výsledky.

Studie přesnosti/reprodukovatelnosti

Přesnost testu Aptima GC byla hodnocena ve třech systémech Panther a ve dvou šaržích souprav testu Aptima GC během 24 dnů. Panely byly vyrobeny obohacením GC rRNA do STM v koncentracích uvedených v tabulce 14. Operátoři provedli dva běhy denně pro každý člen panelu ve dvou replikátech na jeden běh. Byla vypočítána shoda s očekávaným výsledkem a přesnost byla odhadnuta podle pokynů NCCLS EP5-A2 (12). Celkový počet replikátů pro každý panel byl 96. Tabulka 14 zobrazuje data týkající se přesnosti RLU ve smyslu průměru, směrodatné odchylky, variačního koeficientu (CV), procentuální shody s očekávanými výsledky a výpočty variability mezi jednotlivými přístroji, mezi šaržemi, mezi běhy a v rámci běhů.

Tabulka 14: Přesnost systému Panther pro test Aptima GC

Matrice	GC (CFU/ml)	N	Průměrná hodnota RLU (x 1000)	% shoda	Mezi přístroji		Mezi šaržemi		Mezi běhy		V rámci běhu		Celkem	
					SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)
STM	0	96	3	100	0	0	0	0	0	0	2,01	72,8	2	72,5
	12,5	96	3951	100	215,14	5,4	0	0	0	0	568,24	14,4	607,6	15,4
	125	95*	5839	100	370,17	6,3	0	0	0	0	772,58	13,2	856,7	14,7
	1250	96	6207	100	338,25	5,4	0	0	0	0	787,64	12,7	857,2	13,8
Moč	0	95*	3	100	0,69	21,6	0,81	25,5	0,77	24,2	2,43	76,3	2,8	87,8
	12,5	96	3460	100	0	0	195,84	5,7	113,27	3,3	207,53	6	307	8,9
	125	96	6047	100	158,67	2,6	170,32	2,8	0	0	206,24	3,4	311	5,1
	1250	96	6737	100	218,35	3,2	238,49	3,5	66,22	1	176,72	2,6	374,4	5,6
PreservCyt	0	95*	6	100	1,9	33,6	0	0	0,54	9,5	5,96	105,2	6,3	111,2
	12,5	96	3358	100	257,9	7,7	0	0	0	0	485,45	14,5	549,7	16,4
	125	96	5272	100	243,09	4,6	201,89	3,8	0	0	751,72	14,3	815,4	15,5
	1250	96	5945	100	355,95	6	51,06	0,9	0	0	759,35	12,8	840,2	14,1

Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně negativní, což může nastat, pokud je variabilita způsobená těmito faktory velmi malá. Pokud k tomu dojde, SD = 0 a CV = 0 %.

* n z 95 indikuje 1 neplatný replikát z 96, který nebyl opakován.

Studie přenosu pro systém Panther

Aby se zjistilo, že systém Panther minimalizuje riziko falešně pozitivních výsledků vyplývajících z přenosu kontaminace, byla provedena vícenásobná analytická studie s využitím označených panelů ve třech systémech Panther. Přenos byl vyhodnocen s použitím přibližně 20 % vysokých titrů GC vzorků rozptýlených mezi negativními vzorky. Běhy zahrnovaly skupiny vysoce pozitivních vzorků se skupinami negativních vzorků, stejně jako jednotlivé vysoce pozitivní vzorky rozptýlené určitým způsobem v rámci běhu. Vzorky s vysokým titrem byly připraveny pomocí označení GC rRNA do STM za vzniku konečné koncentrace 5×10^5 fg rRNA / reakce (ekvivalent rRNA $2,5 \times 10^5$ CFU/ml). Testování bylo provedeno za použití 5 běhů v každém ze tří systémů Panther s celkem 2923 negativními vzorky. Celkový výskyt přenosu byl 0 % s 95 % intervalem spolehlivosti 0–0,1 %. Celkem 17 negativních vzorků z běhů s vysokým titrem bylo označeno za neplatné a vyloučeno z výpočtu.

Literatura

1. **Centers for Disease Control and Prevention.** *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2019.* Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services; 2019. DOI: 10.15620/cdc.79370.
2. **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.
3. **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.
4. **Hook III, E. W. and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal Infections in the Adult. p. 458. In K. Holmes et. al. (eds.) *Sexually Transmitted Diseases.* McGraw Hill, New York, N.Y.
5. **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.
6. **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.
7. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. *J. Clin. Microbiol.* **37**:386-390.
8. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrick, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen Processing and Concentration of *Chlamydia trachomatis* Added Can Influence False-Negative Rates in the LCx Assay but Not in the Aptima Combo 2 Assay When Testing for Inhibitors. *J. Clin. Microbiol.* **41**:778-782.
9. **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.
10. **Public Health England.** 2014. Guidance for the detection of gonorrhoea in England. <https://www.gov.uk/government/publications/guidance-for-the-detection-of-gonorrhoea-in-england>.
11. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. NCCLS EP12-A. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline for additional guidance on appropriate internal quality control testing practices.
12. **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).

Kontaktní informace a historie revizí



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



Adresa zadavatele v Austrálii:

Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vinciilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Emailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb dané země naleznete na adrese www.hologic.com/support.

Závažné incidenty, ke kterým došlo ve vztahu k prostředku v Evropské unii, je třeba nahlásit výrobci a příslušnému úřadu členského státu, kde sídlí uživatel nebo pacient.

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Panther, PreservCyt, ThinPrep, Tigris a TMA jsou ochranné známky a/nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc. a/nebo jejích dceřiných společností na území USA a/nebo jiných zemí.

TECAN je ochranná známka společnosti Tecan Group AG.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce www.hologic.com/patents.

© 2003-2022 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-22785-2601 Rev. 001

2022-11

Historie revizí	Datum	Popis
AW-22785 Rev. 001	Listopad 2022	<ul style="list-style-type: none"> Vytvořen návod k použití testu APTIMA GC AW-22785 Rev. 001 na základě dokumentu 502185CS Rev.009 pro shodu s předpisy IVDR Aktualizace sekce Určené použití, byla odebrána zmínka o použití v systémech DTS a systémech Tigris DTS Přidána sekce Souhrn údajů o bezpečnosti a výkonu Aktualizované informace o nebezpečí pro EU Aktualizován bod špičky, 1000 µl, který se nachází v tabulce Potřebné materiály, které jsou k dostání samostatně Aktualizovány sekce Varování a bezpečnostní opatření, Odběr a skladování vzorku, tabulka Potřebné materiály, které jsou k dostání samostatně, systém Panther, Interpretace testu – výsledky QC/pacienta, Omezení, Výsledky klinických studií, Očekávané hodnoty, Klinická účinnost, Shoda klinických vzorků, Shoda klinických vzorků v systému Panther, informace o studiích analytické účinnosti a literatura Aktualizované kontaktní údaje včetně: zástupce pro ES, označení CE, informací o zástupci v Austrálii a oddělení technické podpory Dodatečné aktualizace stylu a formátování