

Aptima Combo 2™ Assay

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Pouze pro export z USA.

Obecné informace	2
Určené použití	2
Shrnutí a vysvětlení testu	2
Principy postupu	3
Varování a bezpečnostní opatření	4
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi	7
Odběr a skladování vzorků	8
Interpretace testů – Výsledek QC pacienta	35
Omezení	38
Očekávané hodnoty systémů DTS	40
Systémy DTS Klinické charakteristiky	42
Analytická účinnost systému DTS	64
Shoda klinických vzorků v systému Tigris DTS	68
Analytická účinnost systému Tigris DTS	75
Analytická účinnost systému Panther	78
Literatura	83

Systémy DTS™

Systémy DTS	10
Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky	10
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně ...	11
Volitelné materiály	12
Postup testu na systému DTS	12
Poznámky k postupu	18

Tigris™ DTS™

Systém Tigris DTS	22
Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky	22
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně ..	23
Volitelné materiály	24
Postup testu na systému Tigris DTS	24
Poznámky k postupu	27

Panther™

Systém Panther	28
Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky	28
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně ...	29
Volitelné materiály	30
Postup testu na systému Panther	30
Poznámky k postupu	33

Obecné informace

Určené použití

Test Aptima Combo 2™ Assay je cílový amplifikační test sondy nukleové kyseliny, který využívá technologii záchytu cíle pro *in vitro* kvalitativní detekci a diferenciaci ribozomální RNA (rRNA) *Chlamydia trachomatis* (CT) a/nebo *Neisseria gonorrhoeae* (GC), které napomáhají diagnostice chlamydiového a/nebo gonokokového onemocnění pomocí systému Tigris™ DTS™ nebo Panther™, dle specifikací. Tento test lze použít k testování následujících vzorků od symptomatických i asymptomatických jedinců: klinické endocervikální, vaginální, mužské uretrální vzorky a vzorky ze stěru z krku a z rektálního stěru u mužů a žen, pacienty odebrané vaginální vzorky a mužské i ženské vzorky ze stěru z krku a rektálního stěru¹ a vzorky ženské i mužské moči. Test je určen také k použití při testování gynekologických vzorků od symptomatických i asymptomatických pacientů. Tyto cervikální vzorky odebrané do lahviček s roztokem PreservCyt™ mohou být testovány buď před zpracováním, nebo po zpracování Pap. Testování zpracovaných vzorků po zpracování Pap je omezeno na vzorky zpracované pouze systémem ThinPrep™ 2000 a systémem ThinPrep™ 5000.

Test Aptima Combo 2 Assay je cílový amplifikační test sondy nukleové kyseliny, který využívá technologie záchytu cíle pro *in vitro* kvalitativní detekci a diferenciaci ribozomální RNA *Chlamydia trachomatis* (CT) a/nebo *Neisseria gonorrhoeae* (GC), které napomáhají diagnostice chlamydiového a/nebo gonokokového urogenitálního onemocnění pomocí poloautomatizovaných přístrojů systému DTS, dle specifikací. Test lze použít k testování následujících vzorků u symptomatických jedinců: vzorky klinických endocervikálních, vaginálních a mužských uretrálních stěrů a vzorky ženské a mužské moči. Test lze použít k testování následujících vzorků od asymptomatických jedinců: vzorky klinických endocervikálních, vaginálních a mužských uretrálních stěrů, vzorky pacienty odebraných vaginálních stěrů¹ a vzorky ženské a mužské moči. Test je určen také k použití při testování gynekologických vzorků od symptomatických i asymptomatických pacientů. Cervikální vzorek odebraný do lahviček roztoku PreservCyt může být testován buď před zpracováním, nebo po zpracování Pap. Testování zpracovaných vzorků po zpracování Pap je omezeno na vzorky zpracované pouze systémem ThinPrep 2000 a systémem ThinPrep 5000.

¹Vzorky vaginálních stěrů odebrané pacientkou představují alternativní způsob screeningu žen, u kterých není indikováno pánevní vyšetření. Souprava pro odběr vzorků tampónem Aptima Multitest není určena pro domácí použití.

Shrnutí a vysvětlení testu

Infekce *Chlamydia trachomatis* (CT) a *Neisseria gonorrhoeae* (GC) patří mezi nejčastější pohlavně přenosné infekce na světě. Pouze ve Spojených státech bylo ve střediscích pro kontrolu nemocí v roce 2015 hlášeno odhadem 1 526 658 nových případů (479 případů na 100 000 obyvatel) infekcí CT a 395 216 nových případů (124 případů na 100 000 obyvatel) infekcí GC (9).

Chlamydie jsou nepohyblivé, gram-negativní, obligátně intracelulární bakterie. Druh CT se skládá z patnácti sérovarů (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 a L3) způsobujících onemocnění u člověka (50). Sérovary D až K jsou hlavní příčinou genitálních chlamydiových infekcí u mužů a žen (38). *C. trachomatis* může způsobit negonokokovou uretritidu, epididymitidu, proktitidu, cervicitidu, akutní salpingitidu a hluboký pánevní zánět (PID) (7, 23, 40, 41). Infekce *C. trachomatis* jsou u mužů i u žen často asymptomatické. Děti narozené infikovaným matkám mají výrazně vyšší riziko inkluzní konjunktivitidy a chlamydiové pneumonie (1, 17, 39).

V minulosti bylo v klinických laboratořích použito několik metod detekce CT, včetně buněčné kultivace, přímého testování fluorescenčních protilátek a enzymové imunoanalýzy. Novější metody detekce CT zahrnují přímé testy sondou DNA a testy sondou DNA pro amplifikaci nukleových kyselin (NAAT). Buněčná kultivace byla dříve považována za „zlatý standard“ při detekci CT. Kultivace je poměrně specifická, ale vědecké publikace prokázaly, že technologie sondy DNA NAAT mají vyšší klinickou citlivost (6, 14, 25, 44). Vzhledem k nižší klinické citlivosti a variabilní účinnosti mezi laboratořemi byla kultivace v mnoha laboratořích nahrazena přímou sondou DNA a NAAT.

N. gonorrhoeae jsou příčinnými činiteli onemocnění rodu gonorrhea. *N. gonorrhoeae* jsou nepohyblivé, gram-negativní diplokoky. Většina infekcí rodem gonorrhea jsou nekomplikované infekce spodního genitálního traktu, které mohou být asymptomatické. Jestliže se však u žen ponechají bez léčby, mohou se infekce rozšířit a způsobit PID. PID se může projevit jako endometritida, salpingitida, pánevní peritonitida a tubo-ovariální abscesy. U mužů může být onemocnění rodem gonorrhea komplikováno epididymitidou. To může ve vzácných případech vést k neplodnosti (5). U menšího procenta osob s gonokokovými infekcemi se může vyvinout diseminovaná gonokoková infekce (DGI) (22, 29).

Konvenční diagnostika infekce GC vyžaduje izolaci organismu na selektivním médiu nebo pozorování diplokoků ve stěrech obarvených dle Grama (24). 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 (11, 26). Nekultivační metody pro detekci GC zahrnují přímé testy sondou DNA a NAAT.

První generace NAAT pro CT a GC využívaly nedokonalé technologie, což omezilo jejich účinnost. Mezi tyto problémy patřilo těžkopádné zpracování vzorků a inhibice vzorků, která mohla přinést falešně negativní výsledky (10, 15, 20, 27, 37, 45, 48, 49). Test Aptima Combo 2 Assay je druhá generace NAAT, která využívá technologii záchytu cíle, transkripčně zprostředkovanou amplifikaci (TMA™) a technologii dvojitého kinetického testu Dual Kinetic Assay (DKA) pro zjednodušení zpracování vzorků, amplifikaci cílové rRNA a detekci amplikonu. Studie porovnávající účinnost a inhibici vzorků různých zesilovacích (amplifikačních) systémů prokázaly přínosy technologií záchytu cíle, TMA a DKA (12, 18). Test Aptima Combo 2 Assay kvalitativně detekuje CT a/nebo GC rRNA ve vzorcích z klinických endocervikálních, vaginálních a mužských uretrálních stěrů, ve vzorcích z pacienty odebraných vaginálních stěrů, v kapalných vzorcích Pap v roztoku PreservCyt a ve vzorcích ženské a mužské moči symptomatických a asymptomatických jedinců.

Principy postupu

Test Aptima Combo 2 Assay kombinuje technologie záchytu cíle, TMA a DKA. Vzorky se odebírají a přenášejí do příslušných transportních zkumavek. Transportní roztoky v těchto zkumavkách uvolňují cíle rRNA a chrání je před degradací během skladování. Když se test Aptima Combo 2 Assay provádí v laboratoři, jsou cílové molekuly rRNA izolovány ze vzorků za použití záchytových oligomerů pomocí technologie záchytu cíle, která využívá magnetické mikročástice. Záchytové oligomery obsahují sekvence komplementární ke specifickým oblastem cílových molekul a řetězce deoxyadenosinových zbytků. Pro každý cíl je použit samostatný záchytový oligomer. Během hybridizačního kroku se sekvence specifické oblasti záchytových oligomerů vážou na specifické oblasti cílových molekul. 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 zachycených cílových molekul, které jsou k nim navázané, 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. Test Aptima Combo 2 Assay replikuje specifickou oblast 23S rRNA z CT a specifickou oblast 16S rRNA z GC přes meziprodukty DNA. Pro každou cílovou molekulu se používá unikátní sada primerů. Detekce sekvencí produktů amplifikace rRNA (amplikon) se provádí za použití hybridizace nukleových kyselin. Jednovláknové chemiluminiscenční sondy DNA, které jsou komplementární k oblasti každého cílového amplikonu, jsou značeny různými molekulami akridinium esteru. Označené sondy DNA se kombinují s amplikonem za vzniku stabilních hybridů RNA : DNA. Selektivní reagentie rozlišuje hybridizovanou sondu 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). Při DKA umožňují rozdíly v kinetických profilech sond značených CT a GC diferenciaci signálu; kinetické profily jsou odvozeny z měření výstupu fotonů během detekční doby čtení. Chemiluminiscenční detekční reakce pro signál CT má velmi rychlou kinetiku a má kinetický typ „flasher“. Chemiluminiscenční detekční reakce pro signál GC je relativně pomalejší a má kinetický typ „glower“. Výsledky testu jsou určeny mezní hodnotou vycházející z celkového počtu RLU a typu kinetické křivky.

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pouze pro odborné použití.
- C. Další specifické varování, bezpečnostní opatření a postupy pro kontrolu kontaminace systému Tigris DTS naleznete v *Návodu k obsluze systému Tigris DTS*.
- D. Další specifické varování, bezpečnostní opatření a postupy pro kontrolu kontaminace systému Panther naleznete v *Návodu k obsluze systému Panther*.

Související s laboratoří

- E. Tento test nebyl hodnocen u populací pacientů s nízkou prevalencí onemocnění CT, účinnost v nastavení nízké prevalence proto nebyla stanovena.
- F. Používejte pouze dodané nebo specifikované jednorázové laboratorní vybavení.
- G. 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.
- H. **Varování: Dráždivé a žíravé:** Zabraňte styku autodetekčních reagensů 1 a 2 s kůží, očima a sliznicemi. Pokud tyto tekutiny přijdou do styku s pokožkou nebo očima, omyjte vodou. Pokud dojde k úniku těchto tekutin, zředte před osušením vodou.

- I. Pracovní povrchy, pipety a další vybavení pravidelně dekontaminujte 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného.

Specifické pro systémy DTS

- J. Za účelem minimalizování kontaminace amplikonu v testu se důrazně doporučuje oddělená oblast pro DKA. Tato vyhrazená oblast by měla být vzdálena od přípravy reagensů, záchytu cíle a oblasti amplifikace.
- K. Aby se zabránilo kontaminaci oblastí laboratoře amplikonem, měla by být laboratorní oblast uspořádána s jednosměrným pracovním tokem: od přípravy reagensů po DKA. Vzorky, zařízení ani reagensie nevracejte do oblasti, kde byl proveden předchozí krok. Personál by se také neměl přesouvat zpět do předchozích pracovních prostor bez řádné ochrany proti znečištění.

Související se vzorkem

- L. 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.
Laboratoře mohou validovat další odběrové prostředky (30, 33).
Gynekologické vzorky odebrané pro přípravu pomocí systému ThinPrep 2000 nebo ThinPrep 5000 je třeba odebrat pomocí kombinovaných odběrových prostředků s endocervikálním kartáčkem / plastovou špachtlí.
- M. Data použitelnosti uvedená na odběrových soupravách se vztahují na místo odběru a nikoli na testovací zařízení. Vzorky odebrané kdykoli před datem použitelnosti odběrové soupravy a přepravované a uložené v souladu s příbalovou informací jsou platné pro testování i v případě, že uplyne datum použitelnosti na odběrové zkumavce.
- N. Roztok PreservCyt byl validován jako alternativní médium pro testování pomocí testu Aptima Combo 2 Assay. Kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt, které byly zpracovány pomocí procesoru ThinPrep 3000 nebo jiných přístrojů, nebyly hodnoceny pro testování *Chlamydia trachomatis* a *Neisseria gonorrhoeae* za použití testu Aptima Combo 2 Assay.
- O. 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.
- P. Chcete-li zajistit integritu vzorku, zajistěte při přepravě vzorků vhodné přepravní podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- Q. 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.
- R. Při manipulaci se vzorky zabraňte zkřížené 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.

- S. Pokud laboratoř obdrží transportní zkumavku bez tampónu, se dvěma tampóny, s čistícím tampónem nebo tampónem nedodaným společností Hologic, musí být vzorek odmítnut. Před odmítnutím transportní zkumavky bez tampónu ověřte, že se nejedná o zkumavku Aptima™ pro přenos vzorků, protože tato zkumavka neobsahuje tampón.
- T. Kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt odebírejte podle pokynů výrobce. Alikvoty následně odebrané z lahvičky PreservCyt pro testování testem Aptima Combo 2 Assay, lze zpracovat pouze za použití soupravy pro přenos vzorků Aptima.
- U. Za určitých podmínek může začít z uzávěru po propíchnutí transportní zkumavky Aptima vytékat tekutina. Postupujte podle pokynů v příslušném *postupu testu*, abyste tomu zabránili.

Související s testem

- V. Účinnost testu Aptima Combo 2 Assay nebyla hodnocena u dospívajících mladších 14 let.
- W. Tuto soupravu nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti.
- X. **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.

Specifické pro systémy DTS

- Y. Je nutné používat špičky s hydrofobními zátkami. Pro použití s tímto testem musejí být vyhrazeny minimálně dva opakovací pipetory: jeden pro použití technologie záchytu cíle a amplifikace a jeden pro použití v krocích DKA. Pro použití v tomto testu musejí být vyhrazeny dva mikropipetory: jeden pro použití při přenosu vzorků a jeden pro použití při přípravě reagentií. Všechny pipetory musejí být pravidelně čištěny dle instrukcí uvedených v *Postup testu na systému DTS, Poznámky k postupu*.
- Z. Při použití opakovacích pipetorů pro přidávání reagentií se nedotýkejte zkumavky špičkou pipety, abyste zabránili přenosu z jedné zkumavky do druhé.
- AA. K dosažení přesných výsledků testu je nutné provést odpovídající promíchání. Kompletní pokyny viz *Postup testu na systému DTS, Poznámky k postupu*.
- AB. Pro technologii záchytu cíle, amplifikaci a kroky DKA v testu musejí být vyhrazeny samostatné vodní lázně.
- AC. Těsnicí karty vyhoďte do odpadní nádoby ihned po jejich vyjmutí z reakčních zkumavek. Vždy používejte čerstvé těsnicí karty: nikdy znovu nepoužívejte ty z předchozího kroku. Těsnicí kartu je třeba pevně připevnit k horní části každé reakční zkumavky.

	Aptima Oil Reagent - olejová reagencie Aptima <i>Polydimethylsiloxan 100%</i>
	Selection Reagent - selekční reagencie Kyselina boritá 1-5% Hydroxid sodný <1%
	Target Capture Reagent - reagencie pro záchyt cíle EDTA 1-5%

Varování
 H315 - Dráždí kůži
 H319 - Způsobuje vážné podráždění očí

Varování
 H315 - Dráždí kůži
 H319 - Způsobuje vážné podráždění očí

H411 - Toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky
 P273 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí
 P280 - Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (SDS) EU. Informace o nebezpečí specifické pro vaši oblast naleznete v listu SDS specifickém pro danou oblast v knihovně bezpečnostních listů na adrese www.hologiccsds.com.

Požadavky na skladování reagentů a zacházení s nimi

- A. Následující reagencie jsou stabilní při skladování při teplotě 2 °C až 8 °C (v chladničce):
 Amplifikační reagencie Aptima Combo 2
 Enzymová reagencie Aptima Combo 2
 Reagencie sondy Aptima Combo 2
 Reagencie pro záchyt cíle B Aptima Combo 2
 Pozitivní kontrola APTIMA, CT / negativní kontrola APTIMA, GC
 Pozitivní kontrola APTIMA, GC / negativní kontrola APTIMA, CT
- B. Následující reagencie jsou stabilní při skladování při teplotě 2 °C až 30 °C:
 Rekonstituční roztok pro amplifikaci Aptima Combo 2
 Rekonstituční roztok pro enzymy Aptima Combo 2
 Rekonstituční roztok pro sondy Aptima Combo 2
 Selekční reagencie Aptima Combo 2
- C. Následující reagencie jsou stabilní při skladování při teplotě 15 °C až 30 °C (při pokojové teplotě):
 Reagencie pro záchyt cíle
 Promývací roztok Aptima
 Pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny
 Olejová reagencie Aptima
- D. Pracovní reagencie záchytu cíle (wTCR) je stabilní při skladování při teplotě 15 °C až 30 °C po dobu 30 dnů. Neuchovávejte v chladničce.
- E. Po rekonstituci jsou enzymová reagencie, amplifikační reagencie a reagencie sondy stabilní po dobu 30 dnů, pokud jsou skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C.

- F. Každou nepoužitou rekonstituovanou reagensii a wTCR zlikvidujte po uplynutí 30 dnů nebo po uplynutí data spotřeby hlavní šarže (podle toho, co nastane dříve).
- G. Kontroly jsou stabilní do data vyznačeného na lahvičkách.
- H. Reagencie skladované v systému Tigris DTS jsou stabilní po dobu 48 hodin.
- I. Reagencie skladované v systému Panther jsou stabilní po dobu 72 hodin.
- J. Reagencie sondy i rekonstituovaná reagensie sondy jsou fotosenzitivní. Skladujte reagensie tak, aby byly chráněny před světlem. Uvedená rekonstituovaná stabilita je založena na 12 hodinovém vystavení rekonstituované reagensie sondy dvěma fluorescenčním 60W žárovkám ve vzdálenosti 43 cm a teplotě nižší než 30 °C. Expozice rekonstituované reagensie světlu by měla být odpovídajícím způsobem omezena.
- K. Při ohřátí na pokojovou teplotu se mohou některé kontrolní zkumavky zakalit nebo mohou obsahovat sraženiny. Zakalení nebo sraženiny spojené s kontrolami nemá vliv na účinnost kontroly. Kontroly mohou být použity, ať už jsou čiré nebo zakalené/vysrážené. Pokud jsou požadovány čiré kontroly, může být rozpuštění urychleno jejich inkubací na horním konci teplotního rozmezí (15 °C až 30 °C).

L. Reagencie nezmrazujte.

Odběr a skladování vzorků

Test Aptima Combo 2 Assay je určen k detekci přítomnosti CT a GC u následujících vzorků: vzorky z endocervikálních a mužských uretrálních stěrů, vzorky z vaginálních stěrů, kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt a vzorky ženské a mužské moči. Účinnost u jiných vzorků než těch, které byly odebrány následujícími soupravami pro odběr vzorků, nebyla hodnocena:

- Souprava Aptima pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů
- Souprava Aptima pro odběr vzorků ženské a mužské moči
- Souprava pro odběr více typů stěrů Aptima Multitest
- Souprava pro přenos vzorků Aptima (pro 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 Combo 2 Assay do 60 dnů od odběru. Pokud je potřeba delší skladování, mrazte při -20 °C až -70 °C po dobu až 12 měsíců po odběru (viz *Studie stability vzorku*).

2. Vzorky moči:

- a. Vzorky moči, které jsou stále v primární odběrové nádobě, musejí být přepravovány do laboratoře při teplotě 2 °C až 30 °C. Vzorek moči přeneste do transportní zkumavky pro vzorky moči Aptima do 24 hodin po odběru. Uchovávejte při teplotě 2 °C až 30 °C a testujte do 30 dnů od odběru.

- b. Po odběru přepravujte zpracované vzorky moči v transportní zkumavce pro vzorky moči Aptima při teplotě 2 °C až 30 °C a uchovávejte při teplotě 2 °C až 30 °C až do testování. Zpracované vzorky moči je třeba testovat pomocí testu Aptima Combo 2 Assay do 30 dnů od odběru. Pokud je zapotřebí delší skladování, mrazte při –20 °C až –70 °C po dobu až 12 měsíců po odběru (viz *Studie stability vzorku*).
3. Kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt:
 - a. Kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt určené k testování CT a/nebo 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 *Studie stability vzorku*).
 - b. Pokud chcete použít postup odebrání alikvotních podílů ThinPrep, postupujte podle pokynů pro odebrání alikvotních podílů uvedených v *Dodatku k Návodu k obsluze procesoru ThinPrep 2000, ThinPrep 3000 nebo ThinPrep 5000*. Přeneste 1 ml odebraného alikvotního podílu do transferové zkumavky na vzorek Aptima podle pokynů v příbalové informaci soupravy pro přenos vzorků Aptima.
 - c. Pokud testujete vzorek po zpracování pomocí procesoru ThinPrep 2000, zpracujte kapalnou vzorek Pap v roztoku PreservCyt v souladu s *Návodem k obsluze procesoru ThinPrep 2000* a příbalovou informací soupravy pro přenos vzorků Aptima. Při testování vzorku po použití procesoru ThinPrep 5000 zpracujte kapalnou vzorek Pap v roztoku PreservCyt v souladu s *Návodem k obsluze procesoru ThinPrep 5000* a příbalovou informací soupravy pro přenos vzorků Aptima. Přeneste 1 ml tekutiny, která zůstává v lahvičce roztoku PreservCyt, do transferové zkumavky na vzorek Aptima podle pokynů v příbalové informaci soupravy pro přenos vzorků Aptima.
 - d. Jakmile je kapalnou vzorek Pap v roztoku PreservCyt přenesen do transferové zkumavky na vzorek Aptima, musí být vzorek testován pomocí testu Aptima Combo 2 Assay do 30 dnů při skladování při teplotě 2 °C až 8 °C nebo do 14 dnů při skladování při 15 °C až 30 °C. Pokud je zapotřebí delší skladování, zmrazte při teplotě –20 °C až –70 °C po dobu až 12 měsíců po přenosu (viz *Studie stability vzorku*).
- C. Skladování vzorků po testování:
 1. Otestované vzorky je nutné skladovat ve stojanu ve svislé poloze.
 2. Transportní zkumavky na vzorek je třeba zakrýt novým, čistým plastovým filmem nebo fóliovou bariérou.
 3. Je-li nutné zmrazit nebo odeslat otestované vzorky, odstraňte z transportní zkumavky na vzorek propichovací uzávěr a nasadte na ni nový, nepropichovací uzávěr. Je-li nutné odeslat vzorky k testování na jiné pracoviště, musejí se dodržet doporučené teploty. Před otevřením dříve testovaných a opětovně uzavřených vzorků musejí být transportní zkumavky na vzorky centrifugovány po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle (RCF) 420, aby se veškerá kapalina dostala až na dno zkumavky. **Zabraňte rozstříkávání a zkřížené kontaminaci.**

Poznámka: Vzorky je nutné odeslat v souladu s platnými národními a mezinárodními dopravními předpisy.

Systémy DTS

Reagencie pro test Aptima Combo 2 Assay pro CT a GC jsou uvedeny níže pro systémy DTS. Vedle názvu reagentie jsou rovněž uvedeny symboly pro identifikaci reagentií.

Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky

Souprava testu Aptima Combo 2 Assay, 100 testů (2 krabice) (kat. č. 301032)

Chladicí box Aptima Combo 2 (krabice 1 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Položka	Množství
A	Amplifikační reagentie Aptima Combo 2 <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
E	Enzymová reagentie Aptima Combo 2 <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v roztoku pufovaném HEPES obsahujícím < 10 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
P	Reagentie sondy Aptima Combo 2 <i>Neinfekční chemiluminiscenční sondy DNA vysušené v sukcinátem pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
TCR-B	Reagentie pro záchyt cíle B Aptima Combo 2 <i>Neinfekční nukleové kyseliny v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 x 0,35 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>	3 x 1,7 ml
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>	3 x 1,7 ml

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

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

Symbol	Položka	Množství
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci Aptima Combo 2 <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 9,3 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy Aptima Combo 2 <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 3,3 ml
PR	Rekonstituční roztok pro sondy Aptima Combo 2 <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 x 12,4 ml
S	Selekční reagentie Aptima Combo 2 <i>600 mmol boritanem pufovaného roztoku obsahujícího surfaktant.</i>	1 x 31 ml
	Rekonstituční objímky	3
	Těsnicí karty	1 balíček

Box s pokojovou teplotu Aptima Combo 2 (krabice 2 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Položka	Množství
TCR	Reagencie pro záchyt cíle Aptima Combo 2 <i>Pufrovaný solný roztok obsahující tuhé fáze a záchytové oligomery.</i>	1 x 22 ml
W	Promývací roztok Aptima <i>10 mmol roztoku pufrovaného HEPES obsahujícího < 2 % detergentu.</i>	1 x 402 ml
DF	Pufr Aptima pro deaktivční kapalinu <i>800 mmol hydrogenuhličitanem pufrovaného roztoku.</i>	1 x 402 ml
O	Olejová reagencie Aptima <i>Sílikonový olej.</i>	1 x 24,6 ml

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

Poznámka: *Není-li uvedeno jinak, materiály dodávané společností Hologic mají uvedeno katalogové číslo.*

	Kat. č.
Leader™ HC + luminometr	104747-01
Systém pro záchyt cíle Hologic (TCS)	104555
Inkubátory a vortexové třepačky:	
2 vortexové multitřepačky	102160G
3 oběhové vodní lázně (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	104586
3 distanční vložky do vodní lázně	104627
NEBO	
2 suché teplovodní lázně / třepačky SB100™	105524
<i>Pokud se zvýší objem testů, mohou být zapotřebí další lázně SB100.</i>	
Autodetekční souprava Aptima	301048
2 opakovací pipety Eppendorf Repeater Plus	105725
2 pipety, 1000 µl RAININ PR1000	901715
Pipetor Eppendorf, 20 µl až 200 µl	105726
Špičky opakovacích pipetorů, 2,5 ml	21-381-329
Špičky opakovacích pipetorů, 5,0 ml	21-381-330
Špičky opakovacích pipetorů, 25,0 ml	21-381-115
Špičky, styl P1000	105049
<i>Špička speciálního průměru k dispozici pouze od společnosti Hologic.</i>	
Pipetové špičky 20 µl až 200 µl	705512 (Fisher)
Jednotky deseti zkumavek (TTU)	TU0022
Kazety s deseti špičkami (TTC)	104578

	<u>Kat. č.</u>
Souprava Aptima pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů	301041
Souprava Aptima pro odběr vzorků mužské a ženské moči	301040
Transportní zkumavky Aptima pro vzorky mužské a ženské moči	105575
Souprava pro odběr více typů stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Souprava pro přenos vzorků Aptima	301154C
Souprava pro přenos vzorků Aptima — potisknutelné	PRD-05110
Kalibrační standard SysCheck	301078
Bělidlo 5 % až 7 % (0,7 mol až 1,0 mol) roztok chlornanu sodného	–
Standardní kontejnery na odběr moči, bez konzervačních látek	–
Plastový kontejner s velkým uzávěrem	–
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A

Volitelné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Hologic Bleach Enhancer pro čištění <i>Pro rutinní čištění povrchů a zařízení.</i>	302101
Souprava kontrol Aptima	301110
Kapaliny pro testy Aptima <i>(Promývací roztok Aptima, Pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny a olejová reagentie Aptima.)</i>	302002C
Odbornostní panel pro pohlavní choroby (STI)	102325
Špičky, 1000 µl, vodivé, detekující kapalinu	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4 obsahující	900932
<i>DTS 800 Systems Aptima Combo 2 Deck Plate</i>	<i>105200</i>
<i>Nádržka na reagentie (40 ml čtvrtinový modul)</i>	<i>104765</i>
<i>Dělená nádržka na reagentie (19 ml x 2 čtvrtinové moduly)</i>	<i>104763</i>

Postup testu na systému DTS

A. Příprava zařízení

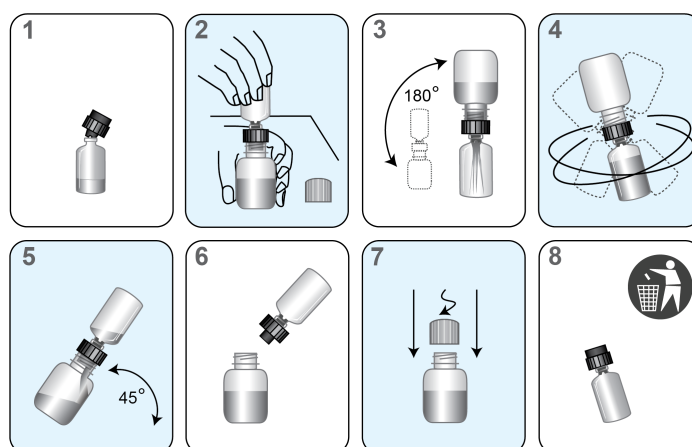
1. Nastavte jednu vodní lázeň na 62 °C ± 1 °C (pro záchyt cíle a hybridizaci primeru), druhou vodní lázeň na 42 °C ± 1 °C (pro amplifikaci) a třetí vodní lázeň na 62 °C ± 1 °C (pro DKA). Pokud používáte suchou teplovodní lázeň / třepačku SB100, přečtěte si *aplikační list suché teplovodní lázně / třepačky SB100 (aplikační list SB100)*.
2. Před zahájením testu otřete pracovní povrchy a pipetory 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Nechte roztok chlornanu sodného působit na površích a pipetorech po dobu nejméně 1 minuty a následně opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Zakryjte povrch stolu, na kterém bude test proveden, čistými absorpčními ubrusy s gumovou vrstvou.

3. Do systému pro záchyt cíle (TCS) umístěte dostatečný počet kazet s deseti špičkami. Ujistěte se, že je promývací láhev TCS naplněna promývacím roztokem Aptima a odsávací potrubí je připojeno k vakuovému čerpadlu. (Viz *Návod k obsluze systému Target Capture* (zachycení cíle).)

B. Rekonstituce reagensů

Poznámka: Rekonstituci reagensů je třeba provést před zahájením přenosu vzorku.

1. K rekonstituci amplifikační reagensie, enzymové reagensie a reagensie sondy smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagensií a rekonstitučním roztokem. V případě, že rekonstituované roztoky byly uloženy v chladničce, nechte je před použitím dosáhnout pokojové teploty.
 - a. Rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagensií. Štítky jsou barevně kódovány tak, aby mohly být spárovány správně.
 - b. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagensií a pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky do otvoru lahvičky (Obrázek 1, krok 1).
 - c. Otevřete odpovídající lahvičku s rekonstitučním roztokem a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - d. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na stole a pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do otvoru v lahvičce (Obrázek 1, krok 2).
 - e. Pomalu převraťte sestavené lahvičky. Nechte roztok přetéct z jedné lahvičky do druhé (Obrázek 1, krok 3).
 - f. Roztok v lahvičce jemně kroužením promíchejte. Při promíchávání lahvičky zabraňte tvorbě pěny (Obrázek 1, krok 4).
 - g. Počkejte, až se lyofilizovaná reagensie rozpustí v roztoku, obraťte spojené lahvičky zpět vzájemným nakloněním pod úhlem 45°, aby nedocházelo k tvorbě pěny (Obrázek 1, krok 5). Nechte veškerou tekutinu vytéct zpět do první lahvičky.
 - h. Odstraňte rekonstituční objímku z lahvičky (Obrázek 1, krok 6).
 - i. Znovu uzavřete lahvičku uzávěrem. Na štítek запиšte iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 1, krok 7).
 - j. Zlikvidujte rekonstituční objímku a lahvičku (Obrázek 1, krok 8).



Obrázek 1. Rekonstituční proces pro systémy DTS

2. Před zahájením testu musejí dříve rekonstituované amplifikační reagencie, enzymové reagencie a reagencie sondy dosáhnout pokojové teploty (15 °C až 30 °C). Pokud reagencie sondy obsahuje sraženinu, která se při pokojové teplotě nerozpustí, zahřejte ji na 62 °C po dobu 1 až 2 minut. Po tomto zahřívacím kroku může být reagencie sondy použita i v případě, že v ní zůstane zbytková sraženina. Po resuspenzování promíchejte jemným převrácením a dbejte na to, aby nedošlo k tvorbě pěny.

Poznámka: Tento krok s převrácením by měl být proveden vždy, když se rozpouští sraženina, ať už zahříváním na 62 °C, nebo zahříváním na pokojovou teplotu.

3. Příprava pracovní reagencie záchytu cíle (wTCR)
 - a. Přeneste 20 ml TCR do přiměřeně velké, čisté, suché nádoby.
 - b. Pomocí mikropipetoru přidejte 200 µl TCR-B do TCR.
 - c. Roztok důkladně promíchejte kroužením.
 - d. Nádobu označte. Poznamenejte iniciály operátora, datum přípravy a obě čísla šarží.

Poznámka: Pro menší počet reakcí (vzorků a kontrol) použijte pro výpočet objemů TCR a TCR-B následující vzorce:

objem TCR (ml) = (počet reakcí + 5 dalších reakcí) x 0,1 ml

objem TCR-B (ml) = objem TCR (ml) / 100

C. Záchyt cíle

Opakovací pipetory používané při záchytu cíle a amplifikaci by měly být vyhrazeny pouze pro použití v těchto krocích. Více informací viz *Varování a bezpečnostní opatření*.

Nastavení stojanů

1. Před zpracováním nechte kontroly a vzorky dosáhnout pokojové teploty.
2. **Vzorky neprotřepávejte na vortexové třepáče.**
3. Vizuálně 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 tampónu v transportní zkumavce Aptima pro kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt.
4. Zkontrolujte zkumavky se vzorky před jejich propíchnutím:
 - a. Pokud zkumavka se vzorky 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, zahřívajte 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.

5. Pokud se mají testovat vzorky se standardními (nepropichovacími) uzávěry, musí být centrifugovány po dobu 5 minut při 420 RCF (relativní odstředivá síla), aby se před otevřením veškerá kapalina dostala až na dno zkumavky. **Zabraňte rozstříkávání a zkřížené kontaminaci.**
6. Do stojanu jednotek deseti zkumavek (TTU) umístěte dostatečné množství jednotek TTU, abyste mohli umístit všechny kontroly a vzorky.
7. Pokud je požadován pracovní seznam, vytvořte v tomto okamžiku pracovní seznam. Pokyny pro vytvoření pracovního seznamu naleznete v *Návodu k obsluze programu Aptima Assay Software*.
8. Důkladně promíchejte wTCR. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte 100 µl do každé reakční zkumavky.
9. Pro správnou práci s programem Aptima Assay Software musí být pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC v první poloze první jednotky TTU.
 - a. Držte zkumavku s pozitivní kontrolou, CT / negativní kontrolou, GC v jedné ruce, nebo ji uložte do stojanu. Tento štítek je růžový. Text štítku je „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“. Pomocí mikropipetoru propíchněte uzávěr; dbejte přitom na to, abyste nezavedli špičku do dna zkumavky. Přidejte 400 µl pozitivní kontroly, CT / negativní kontroly, GC do první reakční zkumavky.
 - b. Stejným způsobem a pomocí nové špičky pipety přidejte 400 µl pozitivní kontroly, GC / negativní kontroly, CT do druhé reakční zkumavky. Štítek druhé kontroly je modrozelený. Text štítku je „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“.
10. Pokračujte v postupu nastavení stojanu přidáním 400 µl každého vzorku do zbývajících reakčních zkumavek. Pro každý vzorek a kontrolu použijte novou špičku pipety. Přípustný objem vzorku nebo kontroly přidané do reakční zkumavky je 400 µl ± 100 µl. Více informací viz *Poznámky k postupu, Pipetování kontroly a vzorku*.

Technologie záchytu cíle

Použití systému pro záchyt cíle společnosti Hologic je popsáno v *Návodu k obsluze systému Target Capture* (zachycení cíle). Pokud používáte suchou teplovodní lázeň / třepačku SB100, přečtěte si *aplikační list SB100*.

11. Zakryjte jednotky TTU těsnicími kartami a rukou jemně protřepejte stojan. **Neprotřepávejte ve vortexové třepačce.** Inkubujte stojan při teplotě 62 °C ± 1 °C ve vodní lázni po dobu 30 ± 5 minut.
12. Vyjměte stojan z vodní lázně a osušte dna zkumavek na suchém absorpčním materiálu.
13. Ujistěte se, že těsnicí karty jsou pevně usazeny. Je-li to nutné, vyměňte je za nové těsnicí karty a pečlivě jednotky TTU utěsněte.
14. Ve vortexové multi-třepačce protřepávejte po dobu 60 sekund. Podrobnosti viz *Poznámky k postupu, Protřepání*. Zahajte protřepávání do 2 minut po vyjmutí stojanu z vodní lázně.
15. Aniž byste odstranili těsnicí karty, inkubujte stojan při pokojové teplotě po dobu 30 ± 5 minut.
16. Umístěte stojan na magnetickou základnu TCS po dobu 5 až 10 minut.

17. Naplňte hadičky rozdělovací čerpací stanice načerpáním promývacího roztoku Aptima přes rozdělovací potrubí. Do systému napumpujte dostatečné množství tekutiny, aby v potrubí nebyly vzduchové bubliny a všech deset trysek dodávalo stabilní proud kapaliny.
18. Zapněte vakuové čerpadlo a odpojte odsávací potrubí od prvního konektoru mezi sacím potrubím a záchytnou láhví. Ujistěte se, že měřidlo vakua splňuje specifikaci zkoušky těsnosti.² Může trvat 15 sekund, než dosáhnete tohoto odečtu. Znovu připojte odsávací potrubí a ujistěte se, že měřidlo vakua odpovídá specifikaci hodnoty vakua. Vakuové čerpadlo ponechte zapnuté, dokud nebudou dokončeny všechny kroky záchytu cíle a odsávací potrubí nebude suché.
19. Pevně připojte odsávací potrubí k první sadě špiček. Nasajte veškerou tekutinu tak, že spustíte špičky do první jednotky TTU, dokud se špičky nedostanou do krátkého kontaktu s dnem zkumavek. Nedržte špičky v kontaktu s dnem zkumavek.
20. Po dokončení aspirace vysuňte špičky do původní TTC. Opakujte aspirační kroky pro zbývající jednotky TTU pomocí vyhrazené špičky pro každý vzorek.
21. Dávkovací potrubí umístěte nad každou jednotku TTU a pomocí čerpadla dávkovací stanice přidejte do každé zkumavky jednotky TTU 1,0 ml promývacího roztoku Aptima.
22. Zkumavky zakryjte těsnicí kartou a vyjměte stojan z magnetické základny TCS. Jednou protřepejte stojan ve vortexové multi-třepačce. Podrobnosti viz *Poznámky k postupu, Protřepání*.
23. Umístěte stojan na magnetickou základnu TCS po dobu 5 až 10 minut.
24. Nasajte veškerou kapalinu, jak je uvedeno v části Kroky 19 a 20.
25. Po konečné aspiraci vyjměte stojan z magnetické základny TCS a vizuálně zkontrolujte zkumavky a ověřte, zda byla veškerá kapalina odsáta a všechny zkumavky obsahují pelety magnetických částic. Pokud je viditelná jakákoliv kapalina, umístěte stojan zpět na magnetickou základnu TCS na 2 minuty a opakujte aspiraci pro danou jednotku TTU pomocí stejných špiček, které byly dříve použity pro každý vzorek.

Poznámka: Pokud jsou po dokončení aspirace viditelné pelety magnetických částic, může být zkumavka přijata. Pokud není viditelná žádná peleta, je nutné vzorek znovu otestovat. Pokud stejný vzorek v tomto kroku neobsahuje peletu magnetických částic, může to značit problém specifický pro daný vzorek. V této situaci se doporučuje opětovný odběr vzorku.

D. Amplifikace

Pokud používáte suchou teplovodní lázeň / třepačku SB100, přečtěte si *aplikační list SB100*.

1. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte do každé reakční zkumavky 75 µl rekonstituované amplifikační reagentie. Všechny reakční směsi ve stojanu by měly být nyní červené.
2. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte do každé reakční zkumavky 200 µl olejové reagentie.
3. Zakryjte zkumavky těsnicí kartou a protřepejte je ve vortexové multi-třepačce.
4. Inkubujte stojan ve vodní lázni při teplotě 62 °C ± 1 °C po dobu 10 ± 5 minut.
5. Přeneste stojan do vodní lázně o teplotě 42 °C ± 1 °C a inkubujte po dobu 5 ± 2 minut.
6. Zatímco je stojan ve vodní lázni, pečlivě vyjměte těsnicí kartu a pomocí opakovacího pipetoru přidejte do každé reakční zkumavky 25 µl rekonstituované enzymové reagentie. Všechny reakční směsi by měly být nyní oranžové.

² Viz tabulka specifikací vakuových systémů pro záchyt cíle umístěná na zadní straně *Návodů k obsluze systému Target Capture* (zachycení cíle) nebo se obraťte na technickou podporu.

7. Zkumavky okamžitě zakryjte čerstvou těsnicí kartou, vyjměte stojan z vodní lázně a promíchejte reakční zkumavky jemným protřepáním stojanu rukou.
8. Inkubujte stojan ve vodní lázni při teplotě $42\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ po dobu 60 ± 15 minut.

E. Dual Kinetic Assay (dvojitý kinetický test) (DKA)

Pokud používáte suchou teplovodní lázeň / třepačku SB100, přečtěte si *aplikační list SB100*.

Opakovací pipetor použitý v krocích hybridizace a selekce by měl být vyhrazen pouze pro použití v těchto krocích. Viz část *Varování a bezpečnostní opatření*.

1. Hybridizace

- a. Vyjměte stojan z vodní lázně a přeneste jej do oblasti DKA. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte do každé reakční zkumavky 100 μl rekonstituované reagensie sondy. Všechny reakční směsi by měly být nyní žluté.
- b. Zkumavky zakryjte těsnicí kartou a protřepejte stojan ve vortexové multi-třepačce.
- c. Stojan inkubujte ve vodní lázni při teplotě $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ po dobu 20 ± 5 minut.
- d. Vyjměte stojan z vodní lázně a inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 ± 1 minut.

2. Selekcce

- a. Pomocí opakovacího pipetoru přidejte do každé reakční zkumavky 250 μl selekční reagensie. Všechny reakční směsi by měly být nyní červené.
- b. Zkumavky zakryjte těsnicí kartou, protřepejte stojan po dobu 10 sekund nebo dokud není barva rovnoměrná a inkubujte stojan ve vodní lázni při teplotě $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ po dobu 10 ± 1 minut.
- c. Vyjměte stojan z vodní lázně.

3. Detekce

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

- a. Inkubujte stojan při teplotě 18 °C až 28 °C po dobu 15 ± 3 minut.

Poznámka: *Tento rozsah teplot je pro účinnost testu zcela zásadní.*

- b. Pokyny k použití Leader HC + luminometru a programu Aptima Assay Software naleznete v *Návodu k obsluze Leader HC + luminometru* a v *Návodu k obsluze programu Aptima Assay Software*.
- c. Ujistěte se, že jsou k dispozici dostatečné objemy autodetekčních reagensií 1 a 2 k dokončení testů.
- d. Připravte Leader HC + luminometr umístěním jedné prázdné jednotky TTU do pozice kazety 1 a proveďte **promývací** protokol.
- e. Vložte jednotky TTU do luminometru.
- f. Přihlaste se do počítače. Klepněte na položku **Nový běh**, vyberte protokol testu **Aptima Combo 2 Assay** a zadejte počet zkumavek (kontrol a vzorků). Klepnutím na tlačítko **Další** zahájíte běh.

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

- g. Připravte deaktivální kapalinu smícháním shodných objemů 5 % až 7 % (0,7 mol až 1,0 mol) roztoku chlornanu sodného a pufru pro deaktivální kapalinu Aptima v plastovém kontejneru s velkým uzávěrem. Označte plastovou nádobu a připište datum spotřeby. Deaktivální kapalina je stabilní po dobu 4 týdnů při pokojové teplotě. Zlikvidujte deaktivální kapalinu po 4 týdnech nebo po deaktivování 100 zpracovaných vzorků (podle toho, co nastane dříve).

- h. Po vyjmutí použitých jednotek TTU z luminometru umístěte jednotky TTU do nádoby s deaktivací kapalinou. Nechte jednotky TTU v nádobě 15 minut, než je zlikvidujete. Je třeba, aby vedoucí laboratoře stanovil správné postupy manipulace s jednorázovým materiálem a postupy jeho likvidace.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

Pro správnou práci s programem Aptima Assay Software musí být pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC v první pozici první jednotky TTU. Tento štítek kontroly je růžový. Text štítku je „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“. Pozitivní kontrola GC / negativní kontrola CT musí být ve druhé pozici první jednotky TTU. Tento štítek kontroly je modrozelený. Text štítku je „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“. Umístění v nesprávné poloze způsobí selhání běhu. Veškeré další kontroly musí být zadány jako vzorky pacientů a monitorovány operátorem z hlediska přijatelnosti.

B. Pipetování kontroly a vzorku

Objem kontroly nebo vzorku přidaného do reakční zkumavky by měl být $400 \mu\text{l} \pm 100 \mu\text{l}$. Pro zajištění správného přenosu objemu se doporučuje vizuální kontrola objemu pipetovaného do reakční zkumavky. Pro přesné výsledky je zapotřebí správný objem kontroly nebo vzorku. Pokud nebyl pipetován správný objem, znovu pipetujte wTCR a kontrolu nebo vzorek do nové reakční zkumavky.

C. Reagencie

Rekonstituční roztok pro sondy se může během skladování vysrážet. Pokud k tomu dojde, zahřívejte rekonstituční roztok pro sondy při teplotě 62°C po dobu 1 až 2 minut. Po tomto kroku ohřevu může být rekonstituční roztok pro sondy použit i v případě, že v něm zůstane zbytková sraženina. Po resuspenzování promíchejte lahvičku jemným převrácením a dbejte na to, aby nedošlo k tvorbě pěny.

D. Teplota

1. Kroky záchytu cíle, amplifikace, hybridizace a selekce jsou závislé na teplotě. Proto je nutné, aby vodní lázně byly udržovány v rámci příslušných specifikovaných teplotních rozsahů.
2. Pokojová teplota je definována jako 15°C až 30°C .
3. Detekční kroky v testu musí být provedeny při teplotě 18°C až 28°C .

E. Čas

Kroky záchytu cíle, amplifikace, hybridizace a selekce jsou závislé na čase. Dodržujte časy uvedené v části *Postup testu na systému DTS*.

F. Protřepání

Správné protřepání je důležité pro úspěšné provedení testu Aptima Combo 2 Assay. Když se dosáhne přiměřeného pohybu třepání, suspenze se otáčí rychlostí, která zvedá roztok do horní poloviny zkumavky. Tato manipulace (třepání) se udržuje po určitou dobu. Chcete-li reakce protřepat, nastavte rychlost multi-třepačky na nejnižší nastavení, zajistíte stojan a zapněte napájení. Pomalu zvyšujte rychlost, až kapalina stoupne do horní poloviny zkumavky. Protřepávejte po dobu 10 sekund, udávaný čas, nebo dokud není barva jednotná. Než multi-třepačku vypnete a vyjmete stojan, snižte rychlost na nejnižší nastavení. Reakční směsi se nikdy nesmí dotýkat těsnicích karet.

G. Vodní lázně

1. Hladina vody ve vodních lázních musí být udržována v rozsahu od 3,8 cm do 5 cm, měřeno od nosné kovové misky (na dně vodní lázně) k vodnímu povrchu. Tím zajistíte správný přenos tepla.
2. Aby se zabránilo zkřížené kontaminaci, vodní lázně musí být vyhrazeny pro konkrétní krok testu.

H. Dekontaminace

1. Povrchy a pipetory

Laboratorní povrchy a pipetory musejí být pravidelně dekontaminovány 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Nechte roztok chlornanu sodného působit na povrchy po dobu nejméně 1 minuty a poté opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Chlorové roztoky mohou působit na zařízení a kovu důlkovou korozi. Důkladně opláchněte zařízení vodou, abyste zabránili poškození.

2. Odsávací potrubí TCS

- a. Umístěte novou TTC do stojanu TTC. Zapněte vakuové čerpadlo. Připojte odsávací potrubí ke špičkám v TTC. Nasajte veškerý promývací roztok, který zůstává v nádrži plnicího dávkovače promývacího roztoku. (Posuňte dávkovací potrubí mimo.)
- b. Nalijte nejméně 100 ml 0,5 % až 0,7 % (0,07 mol až 0,1 mol) nebo 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztoku chlornanu sodného do plnicí nádrže. Všechn roztok nasajte odsávacím potrubím.
- c. Nalijte nejméně 100 ml deionizované vody do plnicí nádrže. Všechnu vodu nasajte odsávacím potrubím.
- d. Vysuňte špičky do původní TTC.
- e. Nechejte vakuové čerpadlo zapnuté, dokud potrubí není suché, aby nedošlo k zpětnému toku.
- f. Dekontaminujte povrchy nasávacího potrubí, jak je popsáno v části *Jednotka TCS*.

3. Odpadní nádoba TCS

Pokud je odpadní lahev z 25 % plná (příp. jednou za týden) vyjměte odpadní lahev ze systému pro zachyt cíle.

- a. Vypněte vakuové čerpadlo a nechte vyrovnat podtlak.
- b. Uvolněte rychloupínací armatury mezi lahví na odpad a přepadovou lahví a lahví na odpad a nasávacím potrubím.
- c. Vyjměte odpadní lahev z pouzdra podtlakového vaku.
- d. Odstraňte uzávěr a opatrně přidejte do lahve 400 ml 5 % až 7 % (0,7 mol až 1,0 mol) roztoku chlornanu sodného (nebo 1 litr, pokud používáte 10l odpadní lahev).

Poznámka: *To lze provést v digestoři, abyste zabránili uvolňování výparů do laboratoře.*

- e. Uzavřete odpadní lahev a jemně promíchejte obsah, dokud není zcela promíchán.
- f. Nechte odpadní lahev ustálit po dobu 15 minut a poté zlikvidujte obsah (odpad).
- g. Odpadní lahev vypláchněte vodou, abyste odstranili veškerý zbývající odpad.
- h. Uzavřete prázdnou odpadní lahev a umístěte ji do pouzdra podtlakového vaku. Připojte rychloupínací armaturu k jednotce TCS. Opatrně zlikvidujte obě rukavice.

4. Jednotka TCS

Povrchy jednotky TCS, nasávacího potrubí a ejekční špičky promývacího pufru otřete papírovými utěrkami navlhčenými 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Po tomto kroku opláchněte vodou a poté povrchy zcela osušte papírovými utěrkami.

5. Stojany

Ponořte stojany do 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztoku chlornanu sodného a ujistěte se, že jsou zcela pokryty roztokem chlornanu sodného. Nechte stojany ponořené po dobu 10 minut. Delší expozice by mohla stojany poškodit. Stojany důkladně opláchněte vodou, umístěte je na čistou absorpční podložku a nechejte je důkladně oschnout. Chcete-li prodloužit životnost stojanů, nechte je oschnout vzpřímeně, nikoli obrácené spodní stranou nahoru.

I. Kontaminace testu

1. K zanesení kontaminujících materiálů může dojít, jestliže během testovacího protokolu nejste dostatečně pozorní.
2. Jednotky TTU musí být dekontaminovány v deaktivační kapalině, jak je popsáno v části *Detekce*. Jednotky TTU nepoužívejte opakovaně.
3. Provádějte pravidelnou dekontaminaci zařízení a pracovních ploch, jak je popsáno v části *Poznámky k postupu, Dekontaminace*.
4. Stejně jako u jiných systémů reagentů může nadbytek talku na rukavicích způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

J. Protokol monitorování kontaminace laboratorních systémů DTS

Existuje mnoho laboratorně specifických faktorů, 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. Interval pro sledování kontaminace je třeba stanovit na základě postupů a praxe jednotlivých laboratoří.

Ke sledování laboratorní kontaminace je možné provést následující postup pomocí soupravy pro odběr vzorků Aptima Unisex pro endocervikální a mužské vzorky z uretrálních stěrů:

1. Označte transportní zkumavky pro přepravu stěrů čísly odpovídajícími oblastem, které mají být testovány.
2. Vyjměte tampón pro odběr vzorku (modrý tyčinkový tampón se zeleným potiskem) z obalu, navlhčete tampón v médiu pro přepravu stěrů a kruhovým pohybem proveďte stěr určené oblasti.
3. Okamžitě vložte tampón do transportní zkumavky.
4. Opatrně odlomte tyčinku tampónu v místě označení; dbejte přitom na to, aby nedošlo k rozstříknutí obsahu.
5. Transportní zkumavku pro přepravu stěrů znovu těsně uzavřete.
6. Opakujte kroky 2 až 5 pro každou oblast, kde má být proveden stěr.
7. Otestujte stěr pomocí testu Aptima Combo 2 Assay podle pokynů uvedených v části *Postup testu na systému DTS*.

Pokud jsou výsledky CT nebo GC pozitivní nebo nejednoznačné (viz část *Interpretace testů – Výsledky QC pacienta*), povrch může být kontaminován a měl by být dekontaminován roztokem chlornanu sodného, jak je doporučeno v části *Postup testu na systému DTS, Příprava zařízení*.

Poznámka: Pokud existuje podezření na kontaminaci vodní lázně, může být voda v lázni testována pomocí postupu testu pro vzorky moči přidáním 2,0 ml vody do transportní zkumavky pro vzorek moči.

K. Řešení problémů

1. Nízké hodnoty pozitivní kontroly mohou být způsobeny nesprávnými teplotami v průběhu různých kroků v rámci testu nebo umožněním delší doby selekce v kroku selekce, než je doporučená doba.
2. Vysoká pozadí mohou nastat, pokud se zkrátí doba selekce v kroku selekce, teplota selekce není správná nebo po přidání selekční reagentie dojde k nedostatečnému smíchání.
3. Pokud je pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC u GC pozitivní nebo nejednoznačná nebo pokud je pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT u CT pozitivní nebo nejednoznačná, viz další informace v části *Poznámky k postupu, Kontaminace testu*.

Systém Tigris DTS

Reagencie pro test Aptima Combo 2 Assay pro CT a GC pro systém Tigris DTS jsou uvedeny níže. Vedle názvu reagentie jsou rovněž uvedeny symboly pro identifikaci reagentií.

Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky

Souprava testu Aptima Combo 2 Assay, 250 testů (2 krabice a 1 souprava kontrol)
(kat. č. 301130 a 301130B)

Chladicí box Aptima Combo 2 (krabice 1 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Položka	Množství
A	Amplifikační reagentie Aptima Combo 2 <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
E	Enzymová reagentie Aptima Combo 2 <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v roztoku pufovaném HEPES obsahujícím < 10 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
P	Reagentie sondy Aptima Combo 2 <i>Neinfekční chemiluminiscenční sondy DNA vysušené v sukcinátem pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
TCR-B	Reagentie pro záchyt cíle B Aptima Combo 2 <i>Neinfekční nukleové kyseliny v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 x 0,61 ml

Box s pokojovou teplotu Aptima Combo 2 (krabice 2 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Položka	Množství
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci Aptima Combo 2 <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 27,7 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy Aptima Combo 2 <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 11,1 ml
PR	Rekonstituční roztok pro sondy Aptima Combo 2 <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 x 35,4 ml
S	Selekční reagentie Aptima Combo 2 <i>600 mmol boritanem pufovaného roztoku obsahujícího surfaktant.</i>	1 x 108 ml
TCR	Reagentie pro záchyt cíle Aptima Combo 2 <i>Pufovaný solný roztok obsahující tuhé fáze a záchytové oligomery.</i>	1 x 54 ml
	Rekonstituční objímky	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list

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

Symbol	Položka	Množství
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
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

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

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

Poznámka: *Není-li uvedeno jinak, materiály dodávané společností Hologic mají uvedeno katalogové číslo.*

	<u>Kat. č.</u>
Systém Tigris DTS	105118
Souprava kapalin pro test Aptima <i>(Promývací roztok Aptima, Pufr Aptima pro deaktivční kapalinu a olejová reagentie Aptima.)</i>	302382
Autodetekční souprava Aptima	301048
Souprava konzervantů kapalin pro systém Aptima	302380
Špičky, 1000 µl, vodivé, detekující kapalinu	10612513 (Tecan)
Souprava pro běh systému Tigris DTS obsahující	301191
<i>Vícezkumavkové jednotky (MTU)</i>	<i>104772-02</i>
<i>Souprava odpadních vaků na MTU-špičky</i>	<i>900907</i>
<i>Deflektor pro odpadní MTU</i>	<i>900931</i>
<i>Kryt pro odpadní MTU</i>	<i>105523</i>
Souprava pro přenos vzorků Aptima <i>Pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt.</i>	301154C
Souprava pro přenos vzorků Aptima — potisknutelné <i>Pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt.</i>	PRD-05110
Souprava pro odběr více typů stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Souprava Aptima pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů	301041
Souprava Aptima pro odběr vzorků mužské a ženské moči	301040
Transportní zkumavky Aptima pro vzorky mužské a ženské moči	105575
Bělidlo 5 % až 7 % (0,7 mol až 1,0 mol) roztok chlornanu sodného	–
Voda pro systém Tigris DTS <i>Specifikace naleznete v Návodu k obsluze systému Tigris DTS.</i>	–

	<u>Kat. č.</u>
Jednorázové rukavice	–
Kalibrační standard SysCheck	301078
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy s 250 testy	–
<i>Rekonstituční roztoky pro amplifikaci a reagentie sondy</i>	
<i>Rekonstituční roztok pro enzymovou reagentii</i>	<i>CL0041 (100 uzávěrů)</i>
<i>TCR a selekční reagentie</i>	<i>501616 (100 uzávěrů)</i>
	<i>CL0040 (100 uzávěrů)</i>

Volitelné materiály

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

Postup testu na systému Tigris DTS

Poznámka: Další informace o postupu testu naleznete v *Návodu k obsluze systému Tigris DTS*.

A. Příprava pracovní plochy

- Očistěte pracovní povrchy, kde budou připravovány reagentie 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 reagentie a vzorky, čistým laboratorním absorpčním ubrusem s gumovou vrstvou.

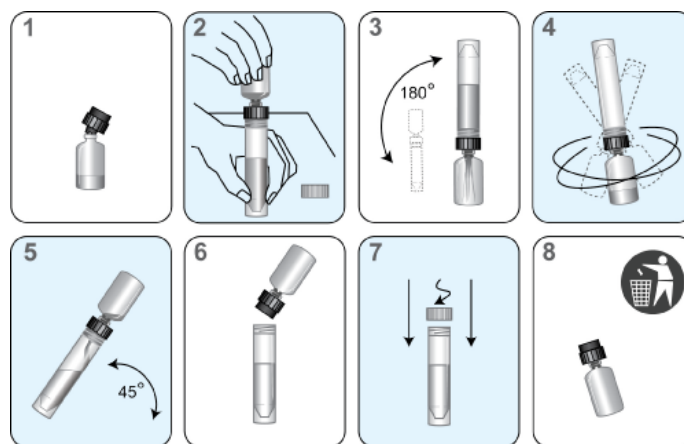
B. Rekonstituce/příprava reagentie z nové soupravy

Poznámka: Před zahájením jakékoli práce na systému Tigris DTS je třeba provést rekonstituci reagentií.

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

- e. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na stole a pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do otvoru v lahvičce (Obrázek 2, krok 2).
- f. Pomalu překlopte spojené lahvičky. Nechte roztok přetéct z lahvičky do skleněné lahvičky (Obrázek 2, krok 3).
- g. Roztok v lahvičce jemně kroužením promíchejte. Při promíchávání lahvičky zabraňte tvorbě pěny (Obrázek 2, krok 4).
- h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagensie zcela rozpustí, obraťte spojené lahvičky zpět vzájemným nakloněním pod úhlem 45°, aby nedocházelo k tvorbě pěny (Obrázek 2, krok 5). Nechte veškerou tekutinu vytéct zpět do plastové lahvičky.
- i. Odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 2, krok 6).
- j. Znovu uzavřete plastovou lahvičku uzávěrem. Na štítek запиšte iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 2, krok 7).
- k. Zlikvidujte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 2, krok 8).

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



Obrázek 2. Postup rekonstituce v systému Tigris DTS nebo v systému Panther

2. Příprava pracovní reagensie záchytu cíle (wTCR)
 - a. Spárujte odpovídající lahvičky TCR 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 a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - d. Otevřete lahvičku TCR-B a nalijte celý obsah do lahvičky TCR. Malé množství roztoku zůstane v lahvičce s TCR-B.
 - e. Uzavřete lahvičku s TCR a krouživými pohyby jemně promíchejte její obsah. Při tomto kroku zabraňte tvorbě pěny.
 - f. Na štítek запиšte 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 запиšte iniciály obsluhy a aktuální datum.

Poznámka: Před vložením do systému všechny reagentie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahvíček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny.

C. Příprava dříve rekonstituovaných reagentií

1. Před zahájením testu musejí dříve rekonstituované amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy dosáhnout pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
2. Pokud rekonstituovaná reagentie sondy 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 kroku ohřevu může být reagentie sondy použita i v případě, že v ní zůstane zbytková sraženina. Reagentii sondy promíchejte převrácením, přičemž dbejte na to, aby před vložením do systému nevznikla pěna.
3. Před vložením reagentií do systému všechny reagentie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahvíček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny.
4. Lahve s reagentiemi nedoplňujte. Systém Tigris DTS rozpozná lahvičky, které byly doplněny, a zamítne je.

D. Manipulace se vzorkem

1. Před zpracováním nechte kontroly a vzorky dosáhnout pokojové teploty.
2. **Vzorky neprotřepávejte na vortexové třepačce.**
3. Vizuálně 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 tampónu v transportní zkumavce Aptima pro kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt.
4. Před vložením zkumavek do stojanu zkontrolujte následující:
 - 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 nižší 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 vzorkem vytéct kapalina.

Poznámka: Z každé zkumavky se vzorkem lze otestovat až 3 samostatné alikvoty. Snahy odpipetovat více než 3 alikvoty ze zkumavky se vzorkem mohou vést k chybám v důsledku nedostatečného objemu.

E. Příprava systému

Připravte systém a pracovní seznam podle pokynů uvedených v *Návodu k obsluze systému Tigris DTS* a *Poznámky k postupu*.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. Chcete-li správně pracovat s programem Tigris Aptima Assay Software, musíte použít přední a koncové kontroly. Pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC musí být v první pozici a předposlední pozici pracovního seznamu. Tento kontrolní štítek je růžový. Text štítku je „CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC“. Pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT musí být ve druhé pozici a poslední pozici pracovního seznamu. Tento kontrolní štítek je modrozelený. Text štítku je „CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT“.
2. Každá zkumavka s kontrolou Aptima může být testována jednou. Pokusy pipetovat ze zkumavky více než jednou mohou vést k chybám v důsledku nedostatečného objemu.

B. Teplota

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

C. Talek na rukavicích

Stejně jako u jiných systémů reagentů může nadbytek talku na rukavicích způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

D. Protokol monitorování kontaminace laboratoří pro systém Tigris DTS

Existuje mnoho laboratorně specifických faktorů, 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 soupravy pro odběr vzorků Aptima Unisex pro endocervikální a mužské vzorky z uretrálních stěrů:

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

Pokud jsou výsledky CT nebo GC pozitivní nebo nejednoznačné, viz část *Interpretace testů – Výsledky QC pacienta*. Další informace o monitorování kontaminace systému Tigris DTS naleznete v *Návodu k obsluze systému Tigris DTS*.

Systém Panther

Reagencie pro test Aptima Combo 2 Assay pro CT a GC pro systém Panther jsou uvedeny níže. Vedle názvu reagentie jsou rovněž uvedeny symboly pro identifikaci reagentií.

Reagencie a materiály, které jsou součástí dodávky

Souprava testu Aptima Combo 2 Assay

100 testů (2 krabice a 1 sada kontrol) (kat. č. 302923)

250 testů (2 krabice a 1 sada kontrol) (kat. č. 303094)

Chladicí box Aptima Combo 2 (krabice 1 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Položka	Množství souprava s 250 testy	Množství souprava se 100 testy
A	Amplifikační reagentie Aptima Combo 2 <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % objemového činidla.</i>	1 lahvička	1 lahvička
E	Enzymová reagentie Aptima Combo 2 <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v roztoku pufovaném HEPES obsahujícím < 10 % objemového činidla.</i>	1 lahvička	1 lahvička
P	Reagentie sondy Aptima Combo 2 <i>Neinfekční chemiluminiscenční sondy DNA vysušené v sukcinátem pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 lahvička	1 lahvička
TCR-B	Reagentie pro záchyt cíle B Aptima Combo <i>Neinfekční nukleové kyseliny v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 x 0,61 ml	1 x 0,30 ml

Box s pokojovou teplotu Aptima Combo 2 (krabice 2 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Položka	Množství souprava s 250 testy	Množství souprava se 100 testy
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci Aptima Combo 2 <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 27,7 ml	1 x 11,9 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy Aptima Combo 2 <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 11,1 ml	1 x 6,3 ml
PR	Rekonstituční roztok pro sondy Aptima Combo 2 <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 x 35,4 ml	1 x 15,2 ml

Box s pokojovou teplotu Aptima Combo 2 (krabice 2 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Položka	Množství souprava s 250 testy	Množství souprava se 100 testy
S	Selekční reagentie Aptima Combo 2 <i>600 mmol boritanem pufovaného roztoku obsahujícího surfaktant.</i>	1 x 108 ml	1 x 43,0 ml
TCR	Reagentie pro záchyt cíle Aptima Combo 2 <i>Pufovaný solný roztok obsahující tuhé fáze a záchytové oligomery.</i>	1 x 54 ml	1 x 26,0 ml
	Rekonstituční objímky	3	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list	1 list

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

Symbol	Položka	Množství
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
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

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

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

Poznámka: Není-li uvedeno jinak, materiály dodávané společností Hologic mají uvedeno katalogové číslo.

	Kat. č.
Systém Panther	303095
Souprava kapalin pro test Aptima <i>(Promývací roztok Aptima, Pufr Aptima pro deaktivční kapalinu a olejová reagentie Aptima.)</i>	303014 (1000 testů)
Autodetekční souprava Aptima	303013 (1000 testů)
Vícezkumavkové jednotky (MTU)	104772-02
Souprava odpadních vaků Panther	902731
Kryt odpadního koše Panther	504405
Nebo Souprava pro běhy Panther <i>Obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních košů, kapaliny pro test a autodetekční reagentie.</i>	303096 (5000 testů)

Špičky, 1000 µl, vodivé, detekující kapalinu	10612513 (Tecan)
Souprava pro přenos vzorků Aptima <i>Pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt.</i>	301154C
Souprava pro přenos vzorků Aptima — potisknutelné <i>Pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt.</i>	PRD-05110
Souprava pro odběr více typů stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Souprava Aptima pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů	301041
Souprava Aptima pro odběr vzorků mužské a ženské moči	301040
Transportní zkumavky Aptima pro vzorky mužské a ženské moči	105575
Bělidlo 5 % až 7 % (0,7 mol až 1,0 mol) roztok chlornanu sodného	–
Jednorázové rukavice	–
Kalibrační standard SysCheck	301078
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy s 250 testy <i>Rekonstituční roztoky pro amplifikaci a reagensie sondy</i>	–
	CL0041 (100 uzávěrů)
<i>Rekonstituční roztok pro enzymovou reagensii</i>	501616 (100 uzávěrů)
<i>TCR a selekční reagensie</i>	CL0040 (100 uzávěrů)
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>
Souprava 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 *Návodu k obsluze systému Panther*

A. Příprava pracovní plochy

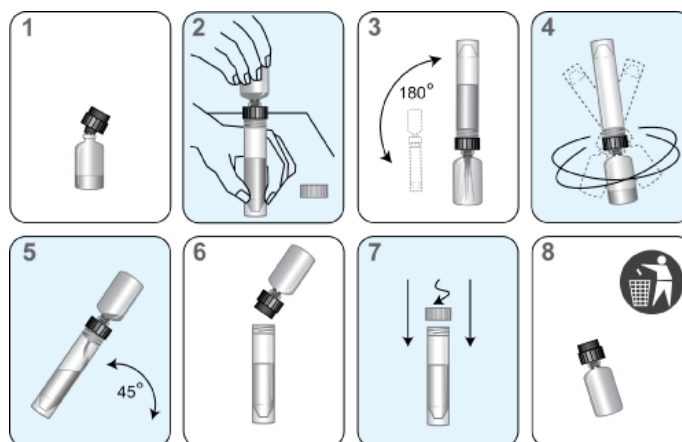
- Očistěte pracovní povrchy, kde budou připravovány reagensie a vzorky. Otřete pracovní povrchy 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Nechte chlornan sodný působit na povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte povrchy stolů, na kterých budou připravovány reagensie a vzorky, čistým laboratorním absorpčním ubrusem s gumovou vrstvou.

B. Rekonstituce/příprava reagentie z nové soupravy

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

1. K rekonstituci amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagentií a 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 reagentií. Před připojením rekonstituční objímky se ujistěte, že rekonstituční roztoky a reagentie mají shodné barvy štítků.
 - b. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagentie.
 - c. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagentií a pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky do otvoru lahvičky (Obrázek 3, krok 1).
 - d. Otevřete odpovídající lahvičku s rekonstitučním roztokem a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - e. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na stole a pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do otvoru v lahvičce (Obrázek 3, krok 2).
 - f. Pomalu překlopte spojené lahvičky. Nechte roztok přetéct z lahvičky do skleněné lahvičky (Obrázek 3, krok 3).
 - g. Roztok v lahvičce promíchejte opatrným kroužením. Při promíchávání lahvičky zabraňte tvorbě pěny (Obrázek 3, krok 4).
 - h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagentie zcela rozpustí, obraťte spojené lahvičky zpět vzájemným nakloněním pod úhlem 45°, aby nedocházelo k tvorbě pěny (Obrázek 3, krok 5). Nechte veškerou tekutinu vytéct zpět do plastové lahvičky.
 - i. Odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 3, krok 6).
 - j. Znovu uzavřete plastovou lahvičku uzávěrem. Na štítek napište iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 3, krok 7).
 - k. Zlikvidujte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 3, krok 8).

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



Obrázek 3. Postup rekonstituce v systému Tigris DTS nebo v systému Panther

2. Příprava pracovní reagentie záchytu cíle (wTCR)

- a. Spárujte odpovídající lahvičky TCR a TCR-B.
 - b. Zkontrolujte čísla šarže reagensů na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagensů v soupravě.
 - c. Otevřete lahvičku TCR a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - d. Otevřete lahvičku TCR-B a nalijte celý obsah do lahvičky TCR. Malé množství roztoku zůstane v lahvičce s TCR-B.
 - e. Uzavřete lahvičku s TCR 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 všechny reagensie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagensiemi zabraňte tvorbě pěny.

C. Příprava dříve rekonstituovaných reagensů

1. Před zahájením testu musejí dříve rekonstituované amplifikační reagensie, enzymové reagensie a reagensie sondy dosáhnout pokojové teploty (15 °C až 30 °C).
2. Pokud rekonstituovaná reagensie sondy 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 kroku ohřevu může být reagensie sondy použita i v případě, že v ní zůstane zbytková sraženina. Reagensii sondy promíchejte převrácením, přičemž dbejte na to, aby před vložením do systému nevznikla pěna.
3. Před vložením reagensů do systému všechny reagensie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagensiemi zabraňte tvorbě pěny.
4. Lahve s reagensiemi nedoplňujte. Systém Panther rozpozná lahvičky, které byly doplněny, a zamítne je.

D. Manipulace se vzorkem

1. Před zpracováním nechte kontroly a vzorky dosáhnout pokojové teploty.
2. **Vzorky neprotřepávejte na vortexové třepačce.**
3. Vizuálně 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 tampónu v transportní zkumavce Aptima pro kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt.
4. Před vložením zkumavek do stojanu zkontrolujte následující:
 - a. Pokud zkumavka se vzorky 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 nižší 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. Nepochichujte 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 4a-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 *Návodu k obsluze systému Panther* a *Poznámky k postupu*. Nezapomeňte použít vhodnou velikost stojanů na reagentie a adaptérů TCR.
2. Vložte vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. Chcete-li správně pracovat s programem Panther Aptima Assay Software, je nutné použít 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 pár kontrol.
 - b. V systému jsou registrovány platné výsledky kontrol.
2. Jakmile byly kontrolní zkumavky napipetovány a zpracovávány pro konkrétní soupravu reagentií, mohou být vzorky pacientů použity s přiřazenou soupravou do 24 hodin, **mimo následujících výjimek:**
 - a. Výsledky kontrol jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagentií testu je vyjmuta ze systému.
 - c. Přiřazená souprava reagentií 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 chybám zpracování.

B. Teplota

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

C. Talek na rukavicích

Stejně jako u jiných systémů reagentií může nadbytek talku na rukavicích způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

D. Protokol monitorování kontaminace laboratoří pro systém Panther

Existuje mnoho laboratorně specifických faktorů, 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. Interval pro sledování kontaminace je třeba stanovit na základě postupů a praxe jednotlivých laboratoří.

Ke sledování laboratorní kontaminace je možné provést následující postup pomocí soupravy pro odběr vzorků Aptima Unisex pro endocervikální a mužské vzorky z uretrálních stěrů:

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

Pokud jsou výsledky CT nebo GC pozitivní nebo nejednoznačné, viz část *Interpretace testů – Výsledky QC pacienta*. Další informace o monitorování kontaminace u systému Panther vám poskytne technická podpora společnosti Hologic.

Interpretace testů – Výsledky QC pacienta

A. Interpretace testu

Výsledky testu automaticky interpretuje program Aptima Assay Software pomocí protokolu Aptima Combo 2 a jsou prezentovány jako jednotlivé výsledky testů CT a GC. Výsledek testu může být negativní, nejednoznačný, pozitivní nebo neplatný, jak je určeno kinetickým typem a celkovým RLU v detekčním kroku (viz níže). Výsledek testu může být neplatný kvůli parametru mimo normální očekávaná rozmezí. Počáteční nejednoznačné a neplatné výsledky testů je třeba znovu otestovat.

Kinetický typ	Celková hodnota RLU (x 1000) poskytuje výsledek CT		
	Negativní	Nejednoznačný	Pozitivní
Pouze CT	1 až < 25	25 až < 100	100 až < 4500
CT a GC	1 až < 85	85 až < 250	250 až < 4500
CT neurčitě	1 až < 85	85 až < 4500	NA

Kinetický typ	Celková hodnota RLU (x 1000) poskytuje výsledek GC		
	Negativní	Nejednoznačný	Pozitivní
Pouze GC	1 až < 60	60 až < 150	150 až < 4500
GC a CT	1 až < 85	85 až < 250	250 až < 4500
GC neurčitě	1 až < 85	85 až < 4500	NA

B. Výsledky kontroly kvality a přijatelnost

Pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC a pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT působí jako kontroly pro kroky záchytu cíle, amplifikace a detekce v rámci testu. 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, CT / negativní kontrola, GC slouží jako negativní kontrola výsledků testů GC. Pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT slouží jako negativní kontrola výsledků testů CT. Je-li to žádoucí, může být přidána dvojitá negativní kontrola poskytnutá uživatelem monitorující pozadí testu. Správná příprava vzorků je vizuálně potvrzena přítomností jediného tampónu Aptima v transportní zkumavce pro vzorky ze stěrů, konečným objemem moči mezi černými plnicími liniemi transportní zkumavky pro vzorek moči nebo nepřítomností tampónu v transportní zkumavce pro vzorek Aptima pro kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt.

Pozitivní kontroly musí vytvářet následující výsledky testu:

Kontrola	Celkový počet RLU (x 1000)	Výsledek CT	Výsledek GC
Pozitivní kontrola, CT / Negativní kontrola, GC	≥ 100 a < 3000	Pozitivní	Negativní
Pozitivní kontrola, GC / Negativní kontrola, CT	≥ 150 a < 3000	Negativní	Pozitivní

1. Program Aptima Assay Software automaticky vyhodnocuje kontroly podle výše uvedených kritérií a hlásí stav běhu jako PASS (PROŠEL), jsou-li splněna kritéria kontroly běhu, 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 by měla zavést vhodné kontrolní postupy pro splnění požadavků nařízení CLIA (oddíl 493.1256).

Poznámka: Viz část *Řešení problémů nebo se obraťte na technickou podporu společnosti Hologic o pomoc při kontrole mimo stanovené rozmezí v systémech DTS.*

4. Parametr systému Tigris DTS umožňuje každému pracovišti určit frekvenci „mezi kontroly“, pomocí které lze v pracovním seznamu umístit další sady kontrol v definovaných intervalech. Pokud je tento parametr specifikován, systém Tigris DTS bude vyžadovat sadu kontrol umístěnou za definovaný počet vzorků v kontrolní mezi. Systém Tigris DTS automaticky vyhodnotí každou kontrolu v pracovním seznamu v souladu s výše uvedenými kritérii a všechny vzorky v postižených kontrolních mezích budou neplatné, pokud kontrolní kritéria nejsou splněna. Více informací naleznete v *Návodu k obsluze systému Tigris DTS.*
5. 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 Tigris DTS, jsou k dispozici v části *Analytická účinnost systému Tigris DTS.* Výsledky z vysoce cílené studie analýzy přenosu, která byla provedena za účelem demonstrace kontroly přenosu na systému Panther, jsou k dispozici v části *Analytická účinnost systému Panther.*

C. Kontrola přípravy vzorků (volitelné)

Pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC a pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT poskytnuté v soupravě působí jako kontroly pro kroky záchytu cíle, amplifikace a detekce v rámci testu a musí být zahrnuty do každého běhu testu. Je-li to žádoucí, lze testovat lýzu buněk a stabilizaci RNA na vhodných transportních médiích (roztoky PreservCyt, STM) 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 uchovávané, 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 testů – Výsledky QC pacienta, 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 stěru, kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt a vzorků moči. (Viz níže uvedené poznámky.)
 - a. Počáteční výsledky

CT Poz	Pozitivní na CT rRNA.
CT Neg	Předpokládaný negativní výsledek na CT rRNA.
CT Nejednoznačný	Vzorek musí být znovu otestován.
GC Poz	Pozitivní na GC rRNA.
GC Neg	Předpokládaný negativní výsledek na GC rRNA.
GC Nejednoznačný	Vzorek musí být znovu otestován.
Invalid (neplatné)	Vzorek musí být znovu otestován.

b. Výsledky opakovaného testování

CT Poz	Pozitivní na CT rRNA.
CT Neg	Předpokládaný negativní výsledek na CT rRNA.
CT Nejednoznačný	Neurčité, je nutné odebrat nový vzorek.
GC Poz	Pozitivní na GC rRNA.
GC Neg	Předpokládaný negativní výsledek na GC rRNA.
GC Nejednoznačný	Neurčité, je nutné odebrat nový vzorek.
Invalid (neplatné)	Neurčité, je nutné odebrat nový vzorek.

Poznámky:

- Při interpretaci výsledků testu Test Aptima Combo 2 u asymptomatických jedinců nebo u některých jedinců v populacích s nízkou prevalencí se doporučuje pečlivé zvážení údajů o účinnosti.
- První platný výsledek pro každou analyzovanou látku je výsledek, který by měl být zaznamenán.
- Negativní výsledek nevylučuje přítomnost infekce CT nebo 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 uchováním vzorku, technickou chybou nebo záměnou vzorku.
- Stejně jako u všech metod bez kultivace nemůže být pozitivní vzorek získaný od pacienta po terapeutické léčbě interpretován jako indikativní pro přítomnost životaschopného CT nebo GC.
- Stejně jako u jakékoli jiné metody testování moči nevylučuje negativní výsledek moči u pacientky, u níž existuje klinické podezření na infekci chlamydií nebo gonokokem, přítomnost CT nebo GC v urogenitálním traktu. V takových případech se doporučuje otestovat endocervikální vzorek. Také negativní výsledek moči na GC u ženy má nižší negativní prediktivní hodnotu než výsledek endocervikálního stěru.
- 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. Vzorky stěru byly vyhodnoceny pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systému DTS z hlediska interference krve, gynekologických lubrikantů a spermicidů. Vzorky moči byly hodnoceny z hlediska interference krve, běžně používaných vitaminů, minerálů a volně prodejných léků proti bolesti. Interference s krví byla vyhodnocena v systému Tigris DTS a v systému Panther. Stěry byly také vyhodnoceny v systému Panther z hlediska interference s léčbou nachlazení, balzámy na rty, léky proti kašli, zubní pastou, ústní vodou, hemoroidním krémem, laxativem, léky proti průjmu, antacidy a výkaly. Data naznačují, že tyto látky nemají na testy rušivý vliv.
- C. Účinky používání tampónů, výplachů vaginy a proměnné odebírání vzorků nebyly hodnoceny z hlediska jejich vlivu na detekci CT či GC.
- D. Přítomnost hlenu v endocervikálních vzorcích nezasahuje do detekce CT nebo GC testem Aptima Combo 2 Assay. Aby však byl zajištěn odběr buněk infikovaných CT, měly by být odebrány cylindrické epitelální buňky endocervixu. Není-li nadbytečný hlen odstraněn, nelze zajistit odběr vzorků těchto buněk.
- E. Tento test byl proveden s použitím pouze následujících vzorků:
- Vzorky endocervikálních, vaginálních, mužských uretrálních, krčních a rektálních stěrů odebrané lékařem
 - Kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt odebrané lékařem
 - Vzorky vaginálního, krčního a rektálního stěru odebrané pacientem
 - Vzorky ženské i mužské moči odebrané pacientem
- Účinnost u jiných vzorků než těch, které byly odebrány následujícími soupravami pro odběr vzorků, nebyla hodnocena:
- Souprava Aptima Unisex pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů
 - Souprava Aptima pro odběr vzorků ženské a mužské moči
 - Souprava pro odběr více typů stěrů Aptima Multitest
 - Souprava pro přenos vzorků Aptima (pro použití s gynekologickými vzorky odebranými v roztoku PreservCyt)
- F. 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. Pacientky mohou mít zánět děložního hrdla (cervicitida), zánět močové trubice (uretritida), infekce močových cest nebo vaginální infekce v důsledku jiných příčin nebo souběžných infekcí způsobených jinými činiteli.
- G. Test Aptima Combo 2 Assay není určen k hodnocení podezření ze sexuálního zneužívání nebo pro jiné medicínsko-právní indikace. U pacientů, u nichž může mít falešně pozitivní výsledek nepříznivý psychosociální dopad, CDC doporučuje provést opakované testování (8).
- H. 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 proškolení klinické lékaře o vhodných technikách odběru vzorků. Přečtěte si příbalovou informaci příslušné soupravy společnosti Hologic pro odběr vzorků.
- I. Terapeutické selhání nebo úspěch nelze v rámci testu Aptima Combo 2 Assay určit, jelikož nukleová kyselina může přetrvávat i po vhodné antimikrobiální terapii.

- J. Výsledky testu Aptima Combo 2 Assay je třeba interpretovat ve spojení s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které má klinický lékař k dispozici.
- K. 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.
- L. Test Aptima Combo 2 Assay poskytuje kvalitativní výsledky. Proto není možné provést korelaci mezi velikostí signálu pozitivního testu a počtem organismů ve vzorku.
- M. U vaginálních stěrů, endocervikálních stěrů, mužských uretrálních stěrů a klinických studií vzorků moči je účinnost týkající se detekce CT a 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.
- N. Pro klinické studie kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt je účinnost testu Aptima Combo 2 Assay při detekci CT a 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.
- O. Účinnost soupravy pro přenos vzorků Aptima nebyla vyhodnocena pro testování stejného kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt před a po zpracování ThinPrep Pap.
- P. Kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt, které byly zpracovány jinými přístroji než procesory ThinPrep 2000 nebo ThinPrep 5000, nebyly hodnoceny pro použití v testech Aptima.
- Q. Vzorky vaginálních stěrů odebrané pacientkou představují alternativní způsob screeningu žen, u kterých není indikováno pánevní vyšetření.
- R. Pacienty odebrané vzorky vaginálního, krčního a rektálního stěru jsou omezeny na zdravotnické zařízení, kde je k dispozici podpora/poradenství pro vysvětlení příslušných postupů a bezpečnostních opatření.
- S. Test Aptima Combo 2 Assay nebyl validován z hlediska použití se vzorky odebranými pacienty doma.
- T. Účinnost testu Aptima Combo 2 Assay nebyla hodnocena u dospívajících mladších 14 let.
- U. Účinnost systému Tigris DTS nebyla vyhodnocena v nadmořských výškách nad 2240 m. Dodatečné volumetrické ověření a specifické studie pro test se budou provádět před zavedením nebo schválením (nebo v jeho rámci) pro laboratoře v nadmořské výšce vyšší než 2240 m.
- V. Účinnost systému Panther nebyla vyhodnocena v nadmořských výškách nad 2000 m.
- W. Neexistuje žádný důkaz degradace nukleových kyselin v roztoku PreservCyt. Pokud má kapalnou vzorek Pap v roztoku PreservCyt malý počet buněk CT a 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.
- X. Zákazníci musí nezávisle validovat proces přenosu LIS.

Očekávané hodnoty systémů DTS**Prevalence**

Prevalence onemocnění CT a/nebo GC v populacích pacientů závisí na rizikových faktorech, jako je věk, pohlaví, přítomnost příznaků, typ kliniky a testovací metody. Souhrn prevalence tří výsledků onemocnění CT a GC stanovených testem Aptima Combo 2 Assay je zobrazen v Tabulkách 1a, 1b, a 1c pro tři multicentrické klinické studie podle klinických pracovišť a celkově.

Prevalence infekce *C. trachomatis* a/nebo *N. gonorrhoeae*, jak je určeno výsledky testu Aptima Combo 2 Assay podle klinického pracoviště**Tabulka 1a: Endocervikální a mužské vzorky uretrálního stěru a moči**

Pracoviště	Endocervikální a mužský uretrální stěr						Moč					
	% prevalence (počet pozitivních/testovaných)						% prevalence (počet pozitivních/testovaných)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	10,0	(39/392)	12,8	(50/392)	14,5	(57/392)	8,4	(33/395)	12,9	(51/395)	13,9	(55/395)
2	7,0	(13/186)	12,9	(24/186)	6,5	(12/186)	5,3	(13/245)	13,9	(34/245)	8,6	(21/245)
3	10,4	(48/462)	22,9	(106/462)	14,3	(66/462)	10,3	(48/465)	20,9	(97/465)	12,7	(59/465)
4	3,3	(9/270)	12,2	(33/270)	7,0	(19/270)	3,3	(9/270)	11,5	(31/270)	6,7	(18/270)
5	1,9	(10/533)	8,4	(45/533)	2,3	(12/533)	2,1	(12/567)	9,4	(53/567)	1,8	(10/567)
6	6,3	(43/678)	12,8	(87/678)	16,2	(110/678)	5,9	(40/681)	10,9	(74/681)	13,5	(92/681)
7	4,4	(11/252)	8,7	(22/252)	21,8	(55/252)	4,1	(12/295)	9,2	(27/295)	18,0	(53/295)
Vše	6,2	(173/2773)	13,2	(367/2773)	11,9	(331/2773)	5,7	(167/2918)	12,6	(367/2918)	10,6	(308/2918)

Tabulka 1b: Vzorky vaginálního stěru odebrané pacientkou a vzorky vaginálního stěru odebrané lékařem

Pracoviště	Vaginální stěr odebraný pacientkou						Vaginální stěr odebraný lékařem					
	% prevalence (počet pozitivních/testovaných)						% prevalence (počet pozitivních/testovaných)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	1,8	(4/220)	16,4	(36/220)	4,1	(9/220)	3	(7/230)	15,7	(36/230)	3,5	(8/230)
2	9,6	(19/198)	18,7	(37/198)	6,6	(13/198)	9,5	(19/199)	18,1	(36/199)	7	(14/199)
3	0,9	(1/111)	9	(10/111)	2,7	(3/111)	0,9	(1/113)	9,7	(11/113)	1,8	(2/113)
4	0,4	(1/266)	9	(24/266)	1,9	(5/266)	0,4	(1/267)	11,2	(30/267)	2,2	(6/267)
5	0,5	(1/199)	7,5	(15/199)	0,5	(1/199)	0,5	(1/199)	7	(14/199)	0,5	(1/199)
6	2,8	(8/290)	10	(29/290)	5,5	(16/290)	2	(6/296)	12,2	(36/296)	5,4	(16/296)
7	0	(0/102)	11,8	(12/102)	0	(0/102)	0	(0/102)	9,8	(10/102)	0	(0/102)
8	0	(0/48)	8,3	(4/48)	2,1	(1/48)	0	(0/51)	7,8	(4/51)	2	(1/51)
Vše	2,4	(34/1434)	11,6	(167/1434)	3,3	(48/1434)	2,4	(35/1457)	12,1	(177/1457)	3,3	(48/1457)

Tabulka 1c: Kapalný vzorek Pap v roztoku PreservCyt

Pracoviště	Kapalný Pap v roztoku PreservCyt % prevalence (počet pozitivních/testovaných)		
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+
1	3,0 (3/100)	13,0 (13/100)	2,0 (2/100)
2	0 (0/124)	3,2 (4/124)	0,8 (1/124)
3	0,4 (2/475)	6,1 (29/475)	0,4 (2/475)
4	0,4 (1/287)	4,2 (12/287)	0 (0/287)
5	0 (0/297)	5,1 (15/297)	1,0 (3/297)
6	0 (0/364)	5,5 (20/364)	0,6 (2/364)
VŠE	0,4 (6/1647)	5,6 (93/1647)	0,6 (10/1647)

Prevalence CT a GC byla vypočítána za použití výsledků testu Aptima Combo 2 Assay z kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt.

Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty hypotetických prevalencí v Severní Americe

Odhady pozitivních a negativních prediktivních hodnot (PPV a NPV) pro různé míry prevalence při použití testu Aptima Combo 2 Assay jsou uvedeny v Tabulkách 2 a 3 pro CT a GC. Tyto výpočty vycházejí z hypotetické prevalence a celkové citlivosti a specifity vypočtené na základě infekčního stavu pacienta pro dvě multicentrické klinické studie. Celková citlivost a specifita pro CT byla 96,1 %, resp. 98,0 % (Tabulka 2). Celková citlivost a specifita pro GC byla 97,8 %, resp. 99,2 % (Tabulka 3). Skutečné hodnoty PPV a NPV vypočtené pomocí údajů z klinických studií jsou uvedeny v Tabulkách 6a a 10a (vzorky stěrů a moči), Tabulkách 6b a 10b (vzorky vaginálních stěrů) a Tabulkách 6c a 10c (kapalné vzorky Pap v roztoku PreservCyt).

Tabulka 2: Hypotetické hodnoty PPV a NPV pro CT

Míra prevalence (%)	Citlivost (%)	Specifita (%)	Pozitivní prediktivní hodnota (%)	Negativní prediktivní hodnota (%)
1	96,1	98,0	33,1	100,0
2	96,1	98,0	50,0	99,9
5	96,1	98,0	72,0	99,8
10	96,1	98,0	84,5	99,6
15	96,1	98,0	89,6	99,3
20	96,1	98,0	92,4	99,0
25	96,1	98,0	94,2	98,7
30	96,1	98,0	95,4	98,3

Tabulka 3: Hypotetické hodnoty PPV a NPV pro GC

Míra prevalence (%)	Citlivost (%)	Specifita (%)	Pozitivní prediktivní hodnota (%)	Negativní prediktivní hodnota (%)
1	97,8	99,2	55,3	100,0
2	97,8	99,2	71,4	100,0
5	97,8	99,2	86,6	99,9
10	97,8	99,2	93,2	99,7
15	97,8	99,2	95,6	99,6
20	97,8	99,2	96,8	99,4
25	97,8	99,2	97,6	99,2
30	97,8	99,2	98,1	99,0

Systémy DTS Klinické charakteristiky

Viz část *Shoda klinických vzorků v systému Tigris DTS* následující po části *Analytická účinnost systému DTS* týkající se specifické klinické účinnosti systému Tigris DTS.

Výsledky klinické studie

Účinnost testu Aptima Combo 2 Assay na systémech DTS byla stanovena ve třech multicentrických klinických studiích provedených v Severní Americe. První multicentrická klinická studie hodnotila vzorky endocervikálních a mužských uretrálních stěrů odebraných lékařem a vzorky mužské a ženské moči od 1363 mužů a 1569 žen zařazených do sedmi geograficky odlišných klinických pracovišť. Druhá multicentrická klinická studie hodnotila vzorky vaginálních stěrů odebraných pacienty a lékaři od 1464 žen zařazených do osmi geograficky odlišných klinických pracovišť. Třetí multicentrická klinická studie hodnotila kapalně vzorky Pap s roztokem PreservCyt od 1647 subjektů zařazených do šesti klinických pracovišť. Ve výpočtech účinnosti založených na stavu symptomů byli pacienti klasifikováni jako symptomatictí, pokud hlásili příznaky jako výtok, dysurie a bolest v pánevní oblasti. Pacienti, kteří žádné příznaky nehlásili, byli klasifikováni jako asymptomatictí.

Klinická studie s endocervikálními stěry, mužskými uretrálními stěry a se vzorky moči

V multicentrické klinické studii hodnotící endocervikální stěry, uretrální stěry a vzorky moči bylo zahrnuto 2932 symptomatických a asymptomatických mužů a žen, kteří docházeli na oddělení venerologie (STD), gynekologie/porodnictví (OB/GYN) a plánování rodiny. Od mužských jedinců byly shromážděny až tři uretrální stěry a vzorek moči a od ženských subjektů byly získány čtyři endocervikální stěry a vzorek moči. U mužů poskytujících jeden uretrální stěr testování zahrnovalo pouze kulturu GC. U mužů poskytujících tři stěry byla testována kultivace GC, dále byl proveden test Aptima Combo 2 Assay a komerčně dostupný NAAT pro CT a GC. Testování endocervikálních stěrů zahrnovalo test Aptima Combo 2 Assay, dva komerčně dostupné NAAT pro CT, jeden komerčně dostupný NAAT pro GC a kulturu GC. Nejprve by odebrán stěr na kulturu GC a příkaz k odběru zbývajících stěrů se posouval tak, aby se minimalizovalo zkreslení odběru. Moč byla testována testem Aptima Combo 2 Assay, dvěma komerčně dostupnými NAAT pro CT a jedním komerčně dostupným amplifikačním testem pro GC. Jako referenční testy byly v této klinické studii testu Aptima Combo 2 Assay použity komerčně dostupné amplifikační testy.

Veškeré výpočty účinnosti byly založeny na celkovém počtu vzorků z endocervikálního a mužského uretrálního stěru a mužských a ženských vzorků moči v testu Aptima Combo 2 Assay ve srovnání s algoritmem infekčního stavu pacienta pro každé pohlaví. V každém genderově specifickém algoritmu bylo určení subjektu jako infekčního, neinfekčního nebo nejednoznačného založeno na kombinovaných výsledcích referenčního endocervikálního NAAT a mužského uretrálního stěru a výsledcích moči. U stavů infikovaných CT mohly být kterékoli dva pozitivní referenční výsledky NAAT v jakékoli kombinaci stěru a moči označeny jako infikované. Pokud byly všechny výsledky referenčního testu negativní, byl subjekt označen jako neinfikovaný. Pokud byl získán pouze jeden pozitivní výsledek, subjekt byl označen jako nejednoznačný. U stavů infikovaných GC označuje pozitivní kultivace nebo pozitivní stěr a moč zjištěné amplifikačním referenčním testem subjekt jako infikovaný. Negativní kultivace a jediný pozitivní výsledek amplifikačního referenčního testu vedly k neprůkaznému stavu. Pokud byly všechny výsledky referenčního testu negativní, byl subjekt označen jako neinfikovaný. Tabulky 7a, 7b, 7c, 8, 11a, 11b, 11c a 12 shrnují četnost výsledků testů pro dva referenční testy NAAT a test Aptima Combo 2 Assay pro subjekty klinických studií.

Výsledky testu Aptima Combo 2 Assay z endocervikálního a mužského uretrálního stěru odebraného lékařem a vzorků moči od mužů a od žen byly porovnány s algoritmem infekčního stavu pacienta za účelem stanovení citlivosti, specificity a prediktivních hodnot. K analýze dat bylo použito celkem 15 661 výsledků testů CT a 14 144 výsledků testů GC. Citlivost a specifická pro CT podle pohlaví, typu vzorku a stavu symptomů uvádí Tabulka 5a. Tabulka 6a zobrazuje citlivost, specifickou a prediktivní hodnoty CT pro test Aptima Combo 2 Assay v porovnání s infekčním stavem pacienta pro každé klinické pracoviště a celkově. Citlivost a specifická pro detekci GC podle pohlaví, typu vzorku a stavu symptomů uvádí Tabulka 9a. Tabulka 10a zobrazuje citlivost, specifickou a prediktivní hodnoty GC pro test Aptima Combo 2 Assay v porovnání s infekčním stavem pacienta pro každé klinické pracoviště a celkově. Vzorky, které byly pozitivní podle testu Aptima Combo 2 Assay a negativní podle infekčního stavu pacienta (tj. zjevně falešně pozitivní), byly testovány na CT a GC alternativními amplifikačními testy Hologic. Tyto testy amplifikují sekvence CT a GC, které se liší od sekvencí amplifikovaných v testu Aptima Combo 2 Assay. Testování bylo provedeno na bázi jednotlivých vzorků (tj. ne nutně na párových stěrech a vzorcích moči) a výsledky alternativních amplifikačních testů nebyly použity ke změně původní kategorizace pacientů (Tabulkách 5a a 9a).

Vzorky z endocervikálního stěru byly hodnoceny z hlediska vlivu krve na účinnost testů CT a GC. Z 2454 vzorků hodnocených z hlediska výsledků CT bylo 234 (9,5 %) krvavých. Z 2829 vzorků hodnocených z hlediska výsledků GC bylo krvavých 247 (8,7 %). Účinnost testů CT ani GC nebyla statisticky odlišná u krvavých vzorků ve srovnání s nekrvavými vzorky. Další údaje o testování krve lze nalézt v části *Interferující látky*.

Vyhodnocení testu endocervikálního stěru a vzorku moči těhotných žen bylo hodnoceno v klinické studii. U CT byla citlivost u endocervikálních stěrů a vzorků moči 100 % (8/8), resp. 100 % (8/8). Specifická endocervikálních stěrů a vzorků moči byla 95,8 % (23/24), resp. a 100 % (24/24). U GC byla citlivost u endocervikálních stěrů a vzorků moči 100 % (8/8), resp. 100 % (8/8). Specifická endocervikálních stěrů a vzorků moči byla 100 % (26/26), resp. 100 % (26/26).

Z 11 406 výsledků testu Aptima Combo 2 Assay získaných v rámci této multicentrické klinické studie byly tři výsledky CT a devět výsledků GC nejednoznačné při opakovaném testování a byly vyloučeny z analýzy. Jeden vzorek byl neplatný pro výsledky CT i GC a byl vyloučen ze studie.

Klinická studie s vaginálními stěry

Do multicentrické klinické studie s vaginálními stěry bylo zařazeno 1464 symptomatických a asymptomatických žen navštěvujících oddělení venerologie (STD), gynekologie/porodnictví (OB/GYN), pro dospívající pacienty a pro plánování rodiny. Ze 646 asymptomatických subjektů zahrnutých do studie byly dva mladší 16 let, 158 ve věku 16 až 20 let, 231 ve věku od 21 do 25 let a 255 bylo starší 25 let. Z 818 symptomatických subjektů zahrnutých do studie bylo 160 ve věku 16 až 20 let, 324 ve věku od 21 do 25 let a 334 bylo starší 25 let. Od každého oprávněného subjektu bylo odebráno pět vzorků; jeden vzorek moči, jeden vaginální stěr odebraný pacientkou, jeden vaginální stěr odebraný lékařem a dva náhodné endocervikální stěry. Výsledky testu Aptima Combo 2 Assay byly získány ze dvou vaginálních stěrů, jednoho endocervikálního stěru a alikvotu vzorku moči. Druhý endocervikální stěr a druhý alikvot vzorků moči byly testovány s použitím jiného komerčně dostupného NAAT pro CT a jiného komerčně dostupného NAAT pro GC. Endocervikální stěr a vzorky moči testované v testu Aptima Combo 2 Assay a pomocí jiných komerčně dostupných NAAT byly použity jako referenční NAAT ke stanovení infikovaného stavu u každého subjektu v klinické studii s vaginálními stěry. Testování vzorků bylo provedeno buď v místě registrace subjektu, nebo v externím testovacím pracovišti.

Všechny výpočty účinnosti byly založeny na celkovém počtu výsledků testu Aptima Combo 2 Assay provedených na vaginálních stěrech odebraných pacientem a lékařem, ve srovnání s algoritmem infekčního stavu pacienta. V analýze dat bylo použito celkem 2073 výsledků CT a 2073 výsledků GC vaginálního stěru. V algoritmu bylo označení subjektu infekčního nebo neinfekčního CT nebo GC založeno na výsledku endocervikálního stěru a vzorku moči z komerčně dostupného testu Aptima Combo 2 Assay a dalšího komerčně dostupného NAAT. Subjekty byly považovány za infikované CT nebo GC, pokud dva ze čtyř endocervikálních stěrů a vzorků moči byly pozitivně testovány v testu Aptima Combo 2 Assay a dalším referenčním NAAT (jeden vzorek pozitivní v každém NAAT). Subjekty byly považovány za neinfekční pokud byly pozitivní méně než dva referenční výsledky NAAT. Tabulkách 7b a 11b shrnují počet výsledků symptomatických a asymptomatických subjektů označených jako infekční nebo neinfekční CT nebo GC podle algoritmu infikovaného stavu pacienta. Pro tuto klinickou studii byly pro stanovení infekčního stavu GC použity dva komerčně dostupné NAAT. Kultivace kultur nebyly použity jako referenční testy, protože test Aptima Combo 2 Assay byl již vyhodnocen proti kulturám pro jiné typy vzorků (podrobnosti viz část *Klinická studie s endocervikálními stěry, mužskými uretrálními stěry a se vzorky moči*).

Citlivost a specificita pro CT podle pohlaví, typu vzorku a stavu symptomů uvádí Tabulka 5b. Tabulka 6b zobrazuje citlivost, specificitu a prediktivní hodnoty CT pro test Aptima Combo 2 Assay v porovnání s infekčním stavem pacienta pro každé klinické pracoviště a celkově. Citlivost a specificita pro detekci GC podle pohlaví, typu vzorku a stavu symptomů uvádí Tabulka 9b. Tabulka 9b zobrazuje citlivost, specificitu a prediktivní hodnoty GC pro test Aptima Combo 2 Assay v porovnání s infekčním stavem pacienta pro každé klinické pracoviště a celkově. Vzorky, které byly pozitivní podle testu Aptima Combo 2 Assay a negativní podle infekčního stavu pacienta (tj. zjevné falešně pozitivní), byly testovány na CT a GC alternativními testy TMA; tyto alternativní testy TMA se zaměřují na sekvence, které jsou jedinečné od těch, na které cílí test Aptima Combo 2 Assay. Výsledky alternativních testů TMA nebyly použity ke změně původní kategorizace pacientů (Tabulkách 5b a 9b).

Z registrovaných 1464 subjektů mělo 13 subjektů neznámý stav infekce CT a 14 subjektů mělo 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 zahrnuty do výpočtů účinnosti. Z 5782 výsledků testů vaginálních stěrů Aptima Combo 2 Assay pocházejících z multicentrické klinické studie bylo zjištěno malé procento (28, 0,5 %) vzorků vaginálních stěrů, které byly při počátečním testování na CT nebo GC označeny za neplatné nebo nejednoznačné. Při opakovaném testování byly pouze tři výsledky CT a dva výsledky GC označeny za nejednoznačné a byly vyloučeny z analýzy. Při opakovaném testování nebyly žádné vzorky neplatné.

Klinická studie kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt

Byla provedena prospektivní multicentrická klinická studie s cílem zhodnotit použití roztoku PreservCyt (součást systému ThinPrep 2000) jako alternativního média pro gynekologické vzorky pro detekci CT a GC. Během klinické studie bylo hodnoceno tisíc šest set čtyřicet sedm (1647) symptomatických a asymptomatických žen, které navštěvovaly oddělení gynekologie/porodnictví (OB/GYN), plánování rodiny, oddělení veřejného zdraví, ženské oddělení a oddělení venerologie (STD). Z 1647 dostupných subjektů bylo 1288 subjektů asymptomatických a 359 pacientů bylo symptomatických. Subjekty byly zařazeny z pracovišť s prevalencí CT, která se pohybovala v rozmezí od 3,2 % do 14,0 % a prevalence GC se pohybovala od 0 % do 5,0 %. Od každého vhodného subjektu byly odebrány dva vzorky: jeden kapalný vzorek Pap v roztoku PreservCyt a jeden endocervikální stěr. Kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt byly zpracovány v souladu s Návodem k obsluze procesoru

ThinPrep 2000 a příbalovou informací soupravy pro přenos vzorků Aptima. Po zpracování kapalného vzorku Pap s roztokem PreservCyt pomocí procesoru ThinPrep 2000 byl vzorek převeden do soupravy pro přenos vzorků Aptima pro testování pomocí testu Aptima Combo 2 Assay. Kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt a vzorky z endocervikálního stěru byly testovány pomocí testu Aptima Combo 2 Assay.

Citlivost a specifická pro kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt byly vypočteny porovnáním výsledků s algoritmem pacienta v infikovaném stavu. V tomto algoritmu bylo označení subjektu infekčního nebo neinfekčního CT nebo GC založeno na výsledku testu endocervikálního stěru ze dvou komerčně dostupných NAAT (Tabulkách 7c a 11c). Pro CT byly referenční NAAT test Aptima Combo 2 Assay a test Aptima CT. Pro GC byly referenční NAAT test Aptima Combo 2 Assay a test Aptima GC. Ke stanovení *infekčního* stavu pacienta byly požadovány pozitivní výsledky z obou referenčních NAAT. Jako *neinfikovaný* byl určen ten pacient, jehož výsledky dvou referenčních testů NAAT byly nesouhlasné nebo negativní.

Citlivost a specifickou pro CT v kapalných vzorcích Pap v roztoku PreservCyt testovaných v testu Aptima Combo 2 Assay, podle stavu symptomů a celkově, uvádí Tabulka 5c. U CT byla celková citlivost 96,7 % (87/90). U symptomatických a asymptomatických pacientů byla citlivost 96,7 % (29/30), resp. 96,7 % (58/60). Celková specifická pro kapalně vzorky Pap CT v roztoku PreservCyt byla 99,2 % (1545/1557). U symptomatických a asymptomatických subjektů byla specifická 98,5 % (324/329), resp. 99,4 % (1221/1228). Tabulka 6c ukazuje hodnoty citlivosti a specifické testu Aptima Combo 2 Assay pro CT v kapalných vzorcích Pap v roztoku PreservCyt podle klinického pracoviště a celkově. U CT se citlivost pohybovala od 92,9 % do 100 %. Specifická se pohybovala od 97,7 % do 100 %.

Citlivost a specifickou pro GC v kapalných vzorcích Pap v roztoku PreservCyt testovaných testem Aptima Combo 2 Assay, podle stavu symptomů a celkového stavu, uvádí Tabulka 9c. U GC byla celková citlivost 92,3 % (12/13). U symptomatických a asymptomatických pacientů byla citlivost 100 % (7/7), resp. 83,3 % (5/6). Celková specifická pro kapalně vzorky Pap GC v roztoku PreservCyt byla 99,8 % (1630/1634). U symptomatických a asymptomatických subjektů byla specifická 100 % (352/352), resp. 99,7 % (1278/1282). Tabulka 10c ukazuje hodnoty citlivosti a specifické testu Aptima Combo 2 Assay pro GC v kapalných vzorcích Pap v roztoku PreservCyt podle klinického pracoviště a celkově. U GC se citlivost pohybovala od 80,0 % do 100 %. Specifická se pohybovala od 99,0 % do 100 %.

Přehled cervikálních odběrových prostředků používaných v této klinické studii podle klinického pracoviště uvádí Tabulka 4.

Tabulka 4: Souhrn cervikálních odběrových prostředků použitých ve studii kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt

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

Tabulky účinnosti – *Chlamydia trachomatis*

C. trachomatis – citlivost a specifická

Tabulka 5a: Vzorky testu Aptima Combo 2 Assay ve srovnání s infekčním stavem pacienta

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

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

¹Zahrnuje 1 mužský subjekt, u kterého nebyly hlášeny příznaky.

²Zahrnuje 1 ženský subjekt, u kterého nebyly hlášeny příznaky.

³Zahrnuje 1 mužský a 1 ženský subjekt, u kterých nebyly hlášeny příznaky.

⁴Výsledky alternativního TMA testu CT představují počet pozitivních výsledků / počet testovaných vzorků: a: 11/14; b: 3/5; c: 14/19; d: 4/8; e: 0/4; f: 4/12; g: 18/22; h: 4/6; i: 22/28; j: 2/8; k: 1/5; l: 3/13; m: 29/36; n: 7/11; o: 36/47; p: 6/16; q: 1/9; a r: 7/25.

Tabulka 5b: Test Aptima Combo 2 Assay vaginálního stěru ve srovnání s infekčním stavem pacienta

Vzorek		Stav symptomů	N	TP	FP ¹	TN	FN	Citlivost (95 % CI)	Specifická (95 % CI)
Odebráno pacientkou	Vaginální stěr	Asympt	628	60	18 ^a	549	1	98,4 % (91,2–100)	96,8 % (95,0–98,1)
		Sympt	809	111	25 ^b	669	4	96,5 % (91,3–99,0)	96,4 % (94,7–97,7)
Odebráno lékařem	Vaginální stěr	Asympt	636	59	16 ^c	559	2	96,7 % (88,7–99,6)	97,2 % (95,5–98,4)
		Vše	1445	170	41 ^d	1228	6	96,6 % (92,7–98,7)	96,8 % (95,6–97,7)

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

¹Výsledky alternativního amplifikačního testu TMA na CT představují počet pozitivních výsledků / počet testovaných vzorků: a: 15/18; b: 17/25; c: 15/16 a d: 32/41.

Tabulka 5c: Vzorky PreservCyt testu Aptima Combo 2 Assay ve srovnání s infekčním stavem pacienta

Stav symptomů	Výsledek AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Citlivost (95 % CI)	Specifická (95 % CI)
Asympt	Pozitivní	58	1	0	6	96,7 % (88,5–99,6)	99,4 % (98,8–99,8)
	Negativní	2	1	12	1208		
	Celkem	60	2	12	1214		
Sympt	Pozitivní	29	0	0	5	96,7 % (82,8–99,9)	98,5 % (96,5–99,5)
	Negativní	1	3	4	317		
	Celkem	30	3	4	322		
Vše	Pozitivní	87	1	0	11	96,7 % (90,6–99,3)	99,2 % (98,7–99,6)
	Negativní	3	4	16	1525		
	Celkem	90	5	16	1536		

+/+ = pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu ACT.

+/- = pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu ACT.

-/+ = negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu ACT.

-/- = negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu ACT.

C. trachomatis – Účinnost podle klinického pracoviště

Tabulka 6a: Vzorky testu Aptima Combo 2 Assay ve srovnání s infekčním stavem pacienta

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

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

*Prevalence nadhodnocená v důsledku počátečního odběru je omezena na screening u symptomatických subjektů.

Tabulka 6b: Test Aptima Combo 2 Assay vaginálního stěru ve srovnání s infekčním stavem pacienta

Vzorek	Pracoviště	N	TP	FP	TN	FN	Prevalence (%)	Citlivost (95 % CI)	Specificita (95 % CI)	PPV (%)	NPV (%)	
Odebráno pacientkou	Vaginální stěr	1	70	14	3	53	0	20,0	100 % (76,8–100)	94,6 % (85,1–98,9)	82,4	100
		2	45	13	3	29	0	28,9	100 % (75,3–100)	90,6 % (75,0–98,0)	81,3	100
		3	45	4	2	39	0	8,9	100 % (39,8–100)	95,1 % (83,5–99,4)	66,7	100
		4	152	6	3	142	1	4,6	85,7 % (42,1–99,6)	99,7 % (94,1–99,6)	66,7	99,3
		5	130	7	3	120	0	5,4	100 % (59,0–100)	97,6 % (93,0–99,5)	70,0	100
		6	75	8	2	65	0	10,7	100 % (63,1–100)	97,0 % (89,6–99,6)	80,0	100
		7	68	5	1	62	0	7,4	100 % (47,8–100)	98,4 % (91,5–100)	83,3	100
		8	43	3	1	39	0	7,0	100 % (29,2–100)	97,5 % (86,8–99,9)	75,0	100
		VŠE	628	60	18	549	1	9,7	98,4 % (91,2–100)	96,8 % (95,0–98,1)	76,9	99,8
Odebráno lékařem	Vaginální stěr	1	227	34	9	182	2	15,9	94,4 % (81,3–99,3)	95,3 % (91,2–97,8)	79,1	98,9
		2	196	50	5	139	2	26,5	96,2 % (86,8–99,5)	96,5 % (92,1–98,9)	90,9	98,6
		3	113	9	3	101	0	8,0	100 % (66,4–100)	97,1 % (91,8–99,4)	75,0	100
		4	262	19	11	231	1	7,6	95,0 % (75,1–99,9)	95,5 % (92,0–97,7)	63,3	99,6
		5	199	13	2	184	0	6,5	100 % (75,3–100)	98,9 % (96,2–99,9)	86,7	100
		6	296	33	9	254	0	11,1	100 % (89,4–100)	96,6 % (93,6–98,4)	78,6	100
		7	102	9	1	91	1	9,8	90,0 % (55,5–99,7)	98,9 % (94,1–100)	90,0	98,9
		8	50	3	1	46	0	6,0	100 % (29,2–100)	97,9 % (88,7–99,9)	75,0	100
		VŠE	1445	170	41	1228	6	12,2	96,6 % (92,7–98,7)	96,8 % (95,6–97,7)	80,6	99,5

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

Tabulka 6c: Vzorky PreservCyt testu Aptima Combo 2 Assay ve srovnání s infekčním stavem pacienta

Pracoviště	Výsledek AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prevalence (%)	Citlivost (95 % CI)	Specificita (95 % CI)	PPV (%)	NPV (%)
1	Pozitivní	14	0	0	2	14,0	100 % (76,8–100)	97,7 % (91,9–99,7)	87,5	100
	Negativní	0	0	1	83					
	Celkem	14	0	1	85					
2	Pozitivní	4	0	0	0	3,2	100 % (39,8–100)	100 % (97,0–100)	100	100
	Negativní	0	0	2	118					
	Celkem	4	0	2	118					
3	Pozitivní	29	0	0	2	6,5	93,5 % (78,6–99,2)	99,5 % (98,4–99,9)	93,5	99,5
	Negativní	2	0	2	440					
	Celkem	31	0	2	442					
4	Pozitivní	8	1	0	4	2,8	100 % (63,1–100)	98,2 % (95,9–99,4)	61,5	100
	Negativní	0	2	1	271					
	Celkem	8	3	1	275					
5	Pozitivní	13	0	0	2	4,7	92,9 % (66,1–99,8)	99,3 % (97,5–99,9)	86,7	99,6
	Negativní	1	1	4	276					
	Celkem	14	1	4	278					
6	Pozitivní	19	0	0	1	5,2	100 % (82,4–100)	99,7 % (98,4–100)	95,0	100
	Negativní	0	1	6	337					
	Celkem	19	1	6	338					
Vše	Pozitivní	87	1	0	11	5,5	96,7 % (90,6–99,3)	99,2 % (98,7–99,6)	87,9	99,8
	Negativní	3	4	16	1525					
	Celkem	90	5	16	1536					

+/+ = pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu ACT.

+/- = pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu ACT.

-/+ = negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu ACT.

-/- = negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu ACT.

Chlamydia trachomatis – Analýza infekčního stavu pacientky**Tabulka 7a: Endocervikální stěr a vzorek moči**

Infekční stav pacienta	NAAT 1		NAAT 2		Test Aptima Combo 2 Assay		Stav symptomů	
	FU	FS	FU	FS	FU	FS	Sympt	Asympt
Infikován	NA	NA	+	+	+	+	1	0
Infikován	NA	+	NA	+	+	+	1	0
Infikován	NA	+	+	+	-	+	0	1
Infikován	-	+	NA	+	-	+	1	0
Infikován	-	+	-	+	-	+	4	0
Infikován	-	+	-	+	+	+	6	1
Infikován	-	+	+	+	-	+	1	0
Infikován	-	+	+	+	+	+	7	3
Infikován	+	NA	+	+	+	+	1	0
Infikován	+	-	NA	+	+	-	1	0
Infikován	+	-	+	-	-	-	1	0
Infikován	+	-	+	-	+	-	7	1
Infikován	+	-	+	-	+	+	2	1
Infikován	+	-	+	+	+	-	1	0
Infikován	+	-	+	+	+	+	3	3
Infikován	+	+	NA	+	+	+	6	2
Infikován	+	+	-	NA	+	+	1	0
Infikován	+	+	-	+	+	+	7	3
Infikován	+	+	+	NA	+	+	1	0
Infikován	+	+	+	-	+	+	2	2
Infikován	+	+	+	+	-	-	1	0
Infikován	+	+	+	+	-	+	1	1
Infikován	+	+	+	+	+	NA	1	0
Infikován	+	+	+	+	+	+	88	44
Neinfikován	-	-	-	-	NA	-	1	1
Neinfikován	-	-	-	-	-	NA	2	1
Neinfikován	-	-	-	-	-	-	648	497
Neinfikován	-	-	-	-	-	+	18	4
Neinfikován	-	-	-	-	+	-	4	3
Neinfikován	-	-	-	-	+	+	4	2
Celkem							822	570

FU = ženská moč; **FS** = ženský endocervikální stěr.

„NA“ označuje vzorek, který nebyl získán nebo není dostupný pro testování.

Tabulka 7b: Vaginální stěry odebrané pacientkou a lékařem

Infekční stav pacienta	NAAT 1		NAAT 2 (Aptima Combo 2)		Test Aptima Combo 2 Assay		Stav symptomů		Celkem
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Symp	Asymp	
Infikován	+	+	+	+	+	+	79	43	122
Infikován	+	+	+	+	+	-	0	1	1
Infikován	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infikován	+	+	+	+	NA	-	1	0	1
Infikován	+	-	+	+	+	+	8	5	13
Infikován	+	-	+	+	-	-	1	0	1
Infikován	+	-	+	+	NA	+	1	0	1
Infikován	+	=	+	+	+	+	1	0	1
Infikován	-	+	+	+	+	+	8	3	11
Infikován	-	+	+	+	-	-	1	0	1
Infikován	-	-	+	+	+	+	1	2	3
Infikován	-	NA	+	+	+	+	1	0	1
Infikován	+	+	+	-	+	+	5	3	8
Infikován	+	-	+	-	+	+	5	0	5
Infikován	+	-	+	-	-	+	2	0	2
Infikován	+	+	-	+	+	+	0	1	1
Infikován	-	+	-	+	+	+	1	4	5
Infikován	-	+	-	+	+	-	1	0	1
Infikován	-	+	-	+	-	-	0	1	1
Neinfikován	-	-	+	-	+	+	0	4	4
Neinfikován	-	-	+	-	+	-	2	1	3
Neinfikován	-	-	+	-	-	+	2	1	3
Neinfikován	-	-	+	-	-	-	6	4	10
Neinfikován	-	-	+	-	NA	+	1	0	1
Neinfikován	-	-	+	-	NA	-	1	0	1
Neinfikován	-	-	-	+	+	+	4	2	6
Neinfikován	-	-	-	+	+	-	1	0	1
Neinfikován	-	-	-	+	-	-	0	2	2
Neinfikován	+	-	-	-	-	-	1	1	2
Neinfikován	-	+	-	-	-	-	1	2	3
Neinfikován	-	-	-	-	+	+	3	2	5
Neinfikován	-	-	-	-	+	-	2	7	9
Neinfikován	-	-	-	-	-	+	12	3	15
Neinfikován	-	-	-	-	-	-	623	516	1139
Neinfikován	-	-	-	-	-	NA	0	2	2
Neinfikován	-	-	-	-	-	=	1	0	1
Neinfikován	-	-	-	-	NA	+	0	1	1
Neinfikován	-	-	-	-	NA	-	11	8	19
Neinfikován	-	-	-	-	NA	NA	1	0	1
Neinfikován	-	-	-	-	NA	=	0	1	1
Neinfikován	-	-	-	-	=	+	0	1	1
Neinfikován	-	NA	-	-	-	-	2	2	4
Neinfikován	-	NA	-	-	NA	-	0	1	1
Neinfikován	-	=	-	-	-	-	12	9	21
Neinfikován	-	=	-	-	-	NA	0	1	1
Neinfikován	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Neinfikován	-	-	-	NA	-	-	0	1	1

Tabulka 7b: Vaginální stěry odebrané pacientkou a lékařem (pokračování)

Infekční stav pacienta	NAAT 1		NAAT 2 (Aptima Combo 2)		Test Aptima Combo 2 Assay		Stav symptomů		Celkem
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Symp	Asymp	
Neinfikován	-	-	NA	-	-	-	5	4	9
Neinfikován	-	-	=	-	-	+	1	0	1
Neinfikován	-	-	=	-	-	-	1	0	1
Celkem							811	640	1451

FS = ženský endocervikální stěr; FU = ženská moč; PVS = asymptomatický vaginální stěr odebraný pacientkou;
CVS = vaginální stěr odebraný lékařem. „NA“ označuje vzorek, který nebyl získán nebo není dostupný pro testování.
Symbol rovnítko (=) znamená nejednoznačný výsledek při opakovaném testování.

Tabulka 7c: Klinická studie kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt – Výsledky stavu infikovaných pacientů z hlediska *C. trachomatis*

Infekční stav pacienta	Výsledek endocervikálního stěru		Stav symptomů	
	AC2	ACT	Symp	Asymp
Infikován	+	+	30	60
Neinfikován	-	+	4	12
Neinfikován	+	-	3	2
Neinfikován	-	-	322	1214
Celkem			359	1288

C. trachomatis – Analýza infekčního stavu pacienta

Tabulka 8: Analýza *C. trachomatis* z uretrálního stěru a vzorku moči u infekčního stavu pacienta

Infekční stav pacienta	NAAT 1		NAAT 2	Test Aptima Combo 2 Assay		Stav symptomů	
	MU	MS	MU	MU	MS	Sympt	Asympt
Infikován	NA	+	+	+	+	2	0
Infikován	-	+	+	+	+	10	4
Infikován	+	NA	+	+	NA	4	6
Infikován	+	NA	+	+	-	2	0
Infikován	+	NA	+	+	+	21	1
Infikován	+	-	+	+	-	3	3
Infikován	+	-	+	+	+	4	3
Infikován	+	+	NA	-	+	1	0
Infikován	+	+	NA	+	+	8	2
Infikován	+	+	-	+	+	12	4
Infikován	+	+	+	-	-	1	0
Infikován	+	+	+	-	+	1	3
Infikován	+	+	+	+	NA	1	0
Infikován	+	+	+	+	-	1	1
Infikován	+	+	+	+	+	131	53
Neinfikován	-	-	-	NA	-	0	2
Neinfikován	-	-	-	-	NA	13	8
Neinfikován	-	-	-	-	-	461	303
Neinfikován	-	-	-	-	+	10	5
Neinfikován	-	-	-	+	-	3	4
Neinfikován	-	-	-	+	+	5	0
Celkem						694	402

MU = mužská moč; MS = mužský uretrální stěr.

„NA“ označuje vzorek, který nebyl získán nebo není dostupný pro testování.

Neisseria gonorrhoeae – Tabulky účinnosti**N. gonorrhoeae – Citlivost a specifická****Tabulka 9a: Vzorky testu Aptima Combo 2 Assay ve srovnání s infekčním stavem pacienta**

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

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

¹Zahrnuje 1 mužský subjekt, u kterého nebyly hlášeny příznaky.

²Zahrnuje 1 ženu, u které nebyly hlášeny příznaky.

³Zahrnuje 1 muže a 1 ženu, u kterých nebyly hlášeny příznaky.

⁴Výsledky alternativních TMA testů na GC představují počet pozitivních výsledků / počet testovaných vzorků: a: 5/5, b: 12/12, c: 17/17, d: 0/1, e: 2/2, f: 2/3, g: 13/15, h: 2/2, i: 15/17, j: 4/7, k: 0/2, l: 4/9, m: 18/20, n: 14/14, o: 32/34, p: 4/8, q: 2/4 a r: 6/12.

Tabulka 9b: Test Aptima Combo 2 Assay vaginálního stěru ve srovnání s infekčním stavem pacienta

Vzorek	Stav symptomů	N	TP	FP ¹	TN	FN	Citlivost (95 % CI)	Specifická (95 % CI)	
Odebráno pacientkou	Vaginální stěr	Asympt	629	21	3 ^a	605	0	100 % (83,9–100)	99,5 % (98,6–99,9)
Odebráno lékařem	Vaginální stěr	Sympt	807	51	7 ^b	747	2	96,2 % (87,0–99,5)	99,1 % (98,1–99,6)
		Asympt	637	21	4 ^c	611	1	95,5 % (77,2–99,9)	99,3 % (98,3–99,8)
		Vše	1444	72	11 ^d	1358	3	96,0 % (88,8–99,2)	99,2 % (98,6–99,6)

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

¹Výsledky alternativního amplifikačního testu TMA na GC představují počet pozitivních výsledků / počet testovaných vzorků: a: 3/3, b: 6/7, c: 3/4 a d: 9/11.

Tabulka 9c: Vzorky PreservCyt testu Aptima Combo 2 Assay ve srovnání s infekčním stavem pacienta

Stav symptomů	Výsledek AC2/GC PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Citlivost (95 % CI)	Specifická (95 % CI)
Asympt	Pozitivní	5	0	1 ¹	3	83,3 % (35,9–99,6)	99,7 % (99,2–99,9)
	Negativní	1	0	5	1273		
	Celkem	6	0	6	1276		
Sympt	Pozitivní	7	0	0	0	100 % (59,0–100)	100 % (99,0–100)
	Negativní	0	0	0	352		
	Celkem	7	0	0	352		
Vše	Pozitivní	12	0	1	3	92,3 % (64,0–99,8)	99,8 % (99,4–99,9)
	Negativní	1	0	5	1625		
	Celkem	13	0	6	1628		

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

+/+ = pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu AGC.

+/- = pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AGC.

-/+ = negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AGC.

-/- = negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AGC.

Neisseria gonorrhoeae – Účinnost podle klinického pracoviště**Tabulka 10a: Vzorky testu Aptima Combo 2 Assay ve srovnání s infekčním stavem pacienta**

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

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

*Prevalence nadhodnocená v důsledku počátečního odběru je omezena na screening u symptomatických subjektů.

Tabulka 10b: Test Aptima Combo 2 Assay vaginálního stěru ve srovnání s infekčním stavem pacienta

Vzorek	Pracoviště	N	TP	FP	TN	FN	Prevalence (%)	Citlivost (95 % CI)	Specificita (95 % CI)	PPV (%)	NPV (%)	
Odebráno pacientkou	Vaginální stěr	1	70	5	1	65	0	7,1	100 % (47,8–100)	98,5 % (91,7–100)	83,3	100
		2	46	7	0	39	0	15,2	100 % (59,0–100)	100 % (91,0–100)	100	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100 % (15,8–100)	100 % (91,8–100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100 % (2,5–100)	100 % (97,6–100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100 % (2,5–100)	100 % (97,2–100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100 % (47,8–100)	97,1 % (90,1–99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0	NA	100 % (94,7–100)	NA	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	NA	100 % (91,8–100)	NA	100
		VŠE	629	21	3	605	0	3,3	100 % (83,9–100)	99,5 % (98,6–99,9)	87,5	100
Odebráno lékařem	Vaginální stěr	1	227	12	3	212	0	5,3	100 % (73,5–100)	98,6 % (96,0–99,7)	80,0	100
		2	196	31	2	163	0	15,8	100 % (88,8–100)	98,8 % (95,7–99,9)	93,9	100
		3	113	3	0	109	1	3,5	75,0 % (19,4–99,4)	100 % (96,7–100)	100	99,1
		4	262	5	2	255	0	1,9	100 % (47,8–100)	99,2 % (97,2–99,9)	71,4	100
		5	198	2	0	196	0	1,0	100 % (15,8–100)	100 % (98,1–100)	100	100
		6	296	18	4	272	2	6,8	90,0 % (68,3–98,8)	98,6 % (96,3–99,6)	81,8	99,3
		7	102	0	0	102	0	0,0	NA	100 % (96,4–100)	NA	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100 % (2,5–100)	100 % (92,7–100)	100	100
		VŠE	1444	72	11	1358	3	5,2	96,0 % (88,8–99,2)	99,2 % (98,6–99,6)	86,7	99,8

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

Tabulka 10c: Vzorky PreservCyt testu Aptima Combo 2 Assay ve srovnání s infekčním stavem pacienta

Pracoviště	Výsledek AC2/GC PreservCyt	Výsledek AC2/GC PreservCyt				Prevalence (%)	Citlivost (95 % CI)	Specifická (95 % CI)	PPV (%)	NPV (%)
		+/+	+/-	-/+	-/-					
1	Pozitivní	5	0	0	0	5,0	100 % (47,8–100)	100 % (96,2–100)	100	100
	Negativní	0	0	0	95					
	Celkem	5	0	0	95					
2	Pozitivní	1	0	0	0	0,8	100 % (2,5–100)	100 % (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 % (28,4–99,5)	100 % (99,2–100)	100	99,8
	Negativní	1	0	0	470					
	Celkem	5	0	0	470					
4	Pozitivní	1	0	0	0	0,3	100 % (2,5–100)	100 % (98,7–100)	100	100
	Negativní	0	0	3	283					
	Celkem	1	0	3	283					
5	Pozitivní	0	0	0	3	0,0	NA	99,0 % (97,1–99,8)	0,0	100
	Negativní	0	0	0	294					
	Celkem	0	0	0	297					
6	Pozitivní	1	0	1 ¹	0	0,3	100 % (2,5–100)	99,7 % (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 % (64,0–99,8)	99,8 % (99,4–99,9)	75,0	99,9
	Negativní	1	0	5	1625					
	Celkem	13	0	6	1628					

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

+/+ = pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / pozitivní výsledek endocervikálního stěru v testu AGC.

+/- = pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AGC.

-/+ = negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / pozitivní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AGC.

-/- = negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AC2 / negativní výsledek vzorku endocervikálního stěru v testu AGC.

Neisseria gonorrhoeae – Analýza infekčního stavu pacientky**Tabulka 11a: Endocervikální stěr a vzorek moči**

Infekční stav pacienta	NAAT		Kultivace	Test Aptima Combo 2 Assay		Stav symptomů	
	FU	FS	FS	FU	FS	Symp	Asymp
Infikován	NA	+	+	+	+	1	1
Infikován	-	-	+	-	-	0	1
Infikován	-	+	+	-	+	5	2
Infikován	-	+	+	+	+	9	2
Infikován	+	NA	+	+	+	1	0
Infikován	+	-	+	+	+	3	1
Infikován	+	+	NA	+	+	0	1
Infikován	+	+	-	+	+	11	2
Infikován	+	+	+	-	+	2	1
Infikován	+	+	+	+	+	62	21
Neinfikován	-	-	-	-	NA	2	3
Neinfikován	-	-	-	-	-	768	559
Neinfikován	-	-	-	-	+	12	2
Neinfikován	-	-	-	+	-	4	3
Neinfikován	-	-	-	+	+	3	0
Celkem						883	599

FU = ženská moč; **FS** = ženský endocervikální stěr.

„NA“ označuje vzorek, který nebyl získán nebo není dostupný pro testování.

Tabulka 11b: Analýza vzorků z vaginálních stěrů odebraných pacientem a odebraných lékařem

Infekční stav pacienta	NAAT 1		NAAT 2		Test Aptima Combo 2 Assay		Stav symptomů		Celkem
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sympt	Asympt	
Infikován	+	+	+	+	+	+	44	15	59
Infikován	+	+	+	+	+	-	1	0	1
Infikován	+	+	+	+	NA	+	0	1	1
Infikován	+	-	+	+	+	+	2	2	4
Infikován	+	NA	+	+	+	+	1	0	1
Infikován	-	+	+	+	+	+	1	1	2
Infikován	-	-	+	+	+	+	1	1	2
Infikován	+	+	+	-	+	+	1	0	1
Infikován	+	-	+	-	+	+	1	1	2
Infikován	+	-	+	-	+	-	1	0	1
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	0	2
Neinfikován	-	-	-	-	+	-	1	1	2
Neinfikován	-	-	-	-	-	+	2	2	4
Neinfikován	-	-	-	-	-	-	698	577	1275
Neinfikován	-	-	-	-	-	NA	0	2	2
Neinfikován	-	-	-	-	-	=	2	0	2
Neinfikován	-	-	-	-	NA	-	15	9	24
Neinfikován	-	-	-	-	NA	NA	1	0	1
Neinfikován	-	NA	-	-	-	-	2	2	4
Neinfikován	-	NA	-	-	NA	-	0	1	1
Neinfikován	-	=	-	-	-	-	11	10	21
Neinfikován	-	=	-	-	-	NA	0	1	1
Neinfikován	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Neinfikován	-	-	-	NA	-	-	0	1	1
Neinfikován	-	-	NA	-	-	-	5	4	9
Neinfikován	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Celkem							810	640	1450

FS = ženský endocervikální stěr; **FU** = ženská moč; **PVS** = asymptomatický vaginální stěr odebraný pacientkou; **CVS** = vaginální stěr odebraný lékařem; „NA“ představuje vzorek, který nebyl odebrán nebo není k dispozici k testování. Symbol rovnítka (=) znamená nejednoznačný výsledek při opakovaném testování.

N. gonorrhoeae – Analýza infekčního stavu pacientky**Tabulka 11c: Klinická studie kapalných Pap vzorků v roztoku PreservCyt – Výsledky infekčních stavů pacientů z hlediska N. gonorrhoeae**

Infekční stav pacienta	Výsledek endocervikálního stěru		Stav symptomů	
	AC2	AGC	Symp	Asymp
Infikován	+	+	7	6
Neinfikován	=	+	0	1
Neinfikován	-	+	0	5
Neinfikován	-	-	352	1276
Celkem			359	1288

N. gonorrhoeae – Analýza infekčního stavu pacienta**Tabulka 12: Uretrální stěr a vzorek moči**

Infekční stav pacienta	NAAT 1		Kultivace	Test Aptima Combo 2 Assay		Stav symptomů	
	MU	MS	MS	MU	MS	Symp	Asymp
Infikován	NA	+	+	+	+	1	0
Infikován	-	NA	+	NA	+	0	1
Infikován	-	NA	+	+	+	1	0
Infikován	-	-	+	-	-	1	0
Infikován	-	+	+	+	+	4	1
Infikován	+	NA	+	NA	+	0	1
Infikován	+	NA	+	+	NA	8	0
Infikován	+	NA	+	+	-	1	0
Infikován	+	NA	+	+	+	50	1
Infikován	+	-	+	+	+	4	1
Infikován	+	+	NA	+	+	1	0
Infikován	+	+	-	+	+	11	1
Infikován	+	+	+	-	-	1	0
Infikován	+	+	+	-	+	3	0
Infikován	+	+	+	+	NA	1	0
Infikován	+	+	+	+	+	229	9
Neinfikován	-	-	-	NA	-	0	1
Neinfikován	-	-	-	NA	+	0	1
Neinfikován	-	-	-	-	NA	17	9
Neinfikován	-	-	-	-	-	411	349
Neinfikován	-	-	-	-	+	5	10
Neinfikován	-	-	-	+	-	1	1
Neinfikován	-	-	-	+	+	0	1
Celkem						750	387

MU = mužská moč; **MS** = mužský uretrální stěr; **NA** = vzorek nebyl získán nebo není k dispozici pro testování.

Distribuce RLU kontrol Aptima

Distribuci RLU pro Aptima – pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT a Aptima – pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC ze všech testů Aptima Combo 2 Assay probíhajících během studií klinických vzorků uvádí Tabulka 13.

Tabulka 13: Distribuce celkových RLU kontrol testu Aptima Combo 2 Assay

Kontrola	Statistika	Celkový počet RLU (x 1000)		
		Klinická studie s endocervikálními stěry, mužskými uretrálními stěry a se vzorky moči	Klinická studie s vaginálními stěry	Klinická studie kapalného vzorku Pap PreservCyt
Pozitivní kontrola, CT / negativní kontrola, GC	Maximum	1572	1996	1747
	75. percentil	1160	1279	1264
	Medián	1063	1135	1165
	25. percentil	996	933	1024
	Minimum	274	174	494
Pozitivní kontrola, GC / negativní kontrola, CT	Maximum	1359	1420	1438
	75. percentil	1202	1255	1288
	Medián	1093	1169	1201
	25. percentil	989	1084	1099
	Minimum	167	249	166

Studie přesnosti

Testování přesnosti bylo provedeno na třech pracovištích, aby bylo možné zjistit opakovatelnost a reprodukovatelnost testu. Studie přesnosti byly provedeny jako součást klinické studie endocervikálního stěru, mužského uretrálního stěru a vzorku moči a klinické studie kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt. Pro předchozí studii bylo každé pracoviště opatřeno třemi identickými panely 13 vzorků obsahujících 0 až 500 fg CT rRNA, 0 až 25 000 fg GC rRNA nebo kombinací CT a GC rRNA. Testování bylo prováděno po dobu tří dnů za použití různých šarží soupravy testu každý den. Celkové RLU, popisné statistiky v rámci běhu, mezi běhy a mezi pracovišti uvádí Tabulka 14a.

Pro druhou studii přesnosti byla stanovena reprodukovatelnost s 12členným panelem generovaným standardním přídávkem (spikováním) roztoku PreservCyt 0 až 2000 fg/test CT a 0 až 5000 fg/test GC rRNA a alikvotací 1,0 ml do odběrové zkumavky soupravy pro přenos vzorků Aptima. Dva (2) operátoři v každém, z těchto tří pracovišť provedli jeden běh denně v každém ze tří dnů, celkem tedy tři platné běhy na jednoho operátora. Testování bylo provedeno za použití jedné šarže soupravy testu. Výsledky této studie přesnosti shrnuje Tabulka 14b.

U obou studií byla reprodukovatelnost stanovena standardním přídávkem (spikováním) vhodného transportního média (STM, roztok PreservCyt) rRNA. Reprodukovatelnost při testování stěru, moči nebo klinických kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt obsahujících cílový organismus nebyla stanovena.

Tabulka 14a: Transportní médium pro stěry

Člen panelu	N	Průměrná hodnota RLU (x 1000)	V rámci běhu		Mezi běhy		Mezi pracovišti		
			SD (RLU)	CV (%)	SD (RLU)	CV (%)	SD (RLU)	CV (%)	
Vysoká	CT stěr	54	1055	76 588	7,3	83 711	7,9	150 332	14,2
	Dvojitý stěr*	54	2338	93 449	4,0	90 317	3,9	142 898	6,1
	Dvojitá moč*	54	2281	91 487	4,0	106 715	4,7	152 747	6,7
Střední	GC stěr	54	1265	30 561	2,4	55 642	4,4	34 413	2,7
	CT stěr	54	1001	69 831	7,0	77 701	7,8	159 774	16,0
	Dvojitý stěr*	54	2241	152 377	6,8	58 353	2,6	139 983	6,2
Nizká	GC stěr	54	1249	35 142	2,8	60 638	4,9	46 364	3,7
	CT stěr	54	1013	61 795	6,1	90 906	9,0	131 207	13,0
	Dvojitý stěr*	54	2085	286 034	13,7	161 764	7,8	58 837	2,8
	Dvojitá moč*	54	2201	95 705	4,3	118 760	5,4	106 802	4,9
Negativní	GC stěr	54	1177	42 478	3,6	69 821	5,9	29 836	2,5
	Stěr	54	7	1301	18,3	2311	32,5	1901	26,8
	Moč	54	7	861	12,0	2299	32,1	1994	27,9

*Dva pozitivní členy panelu obsahovaly jak CT, tak GC rRNA.

Tabulka 14b: Roztok PreservCyt

Koncentrace (fg/test)		N	Shoda	Průměrná hodnota RLU (x 1000)	V rámci běhu		Mezi běhy		Mezi pracovišti		Mezi operátory	
CT	GC				SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)	SD (x 1000)	CV (%)
0	0	162	97,5 %	9,7	31,6	NA	3,4	NA	6,4	NA	4,7	NA
0	5000	54	96,3 %	1296	146	11,3	54,8	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0
2000	0	54	100 %	1140	54,1	4,7	79,8	7,0	101	8,9	2,4	0,2
2000	5000	54	100 %	2345	79,6	3,4	78,0	3,3	94,7	4,0	37,9	1,6
0	250	54	100 %	953	114	12,0	0,0	0,0	161	16,9	90,7	9,5
5	0	54	100 %	971	58,3	6,0	71,7	7,4	22,8	2,4	85,0	8,8
1000	2500	54	100 %	2294	114	5,0	88,9	3,9	153	6,7	0,0	0,0
100	250	54	98,1 %	1911	139	7,3	130	6,8	348	18,2	39,7	2,1
5	5000	54	100 %	2136	113	5,3	130	6,1	98,8	4,6	166	7,8
2000	250	54	96,3 %	2044	138	6,7	169	8,3	360	17,6	26,9	1,3

RLU = relativní světelné jednotky; SD = směrodatná odchylka; CV = variační koeficient; NA znamená vzorek, který se nevztahuje na negativní členy panelu.

Vzorky s nesouhlasnými a nejednoznačnými výsledky byly zahrnuty v analýze variability signálu.

U hodnot CV a SD rovných 0,0 je variabilita způsobená tímto zdrojem velmi malá vzhledem k jiným zdrojům variace.

Analytická účinnost systému DTS

Viz část *Analytická účinnost systému Tigris DTS* následující po části *Shoda klinického vzorku v systému Tigris DTS*, ve které naleznete informace o analytické účinnosti systému Tigris DTS.

Viz část *Analytická účinnost systému Panther*, kde naleznete informace o analytické účinnosti systému Panther.

Analytická citlivost

Analytická citlivost *Chlamydia trachomatis* (meze detekce) byla stanovena přímým porovnáním ředění CT organismů v buněčné kultuře a v testu. Požadavek na analytickou citlivost pro test je jedna jednotka tvořící inkluzi (IFU) na jeden test (7,25 IFU/stěr, 5,0 IFU/ml moči, 9,75 IFU/ml kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt) pro všech 15 CT sérovarů (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 a L3). Nicméně ředění menší než 1,0 IFU/test všech sérovarů mělo v testu Aptima Combo 2 Assay pozitivní výsledek.

Analytická citlivost *Neisseria gonorrhoeae* byla stanovena přímým porovnáním ředění 57 různých klinických izolátů v kultivaci a v testu Aptima Combo 2 Assay se stěry a vzorky moči a 20 klinickými izoláty s kapalnými vzorky Pap v roztoku PreservCyt. Požadavek analytické citlivosti pro test je 50 buněk/test (362 buněk/stěr, 250 buněk / ml moči, 488 buněk / ml kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt). Nicméně všechny testované kmeny byly pozitivní při hodnotě menší než 50 buněk/test.

Analytická specifita

Pomocí testu Aptima Combo 2 Assay bylo hodnoceno celkem 198 organismů ve dvou studiích. Počáteční studie zahrnovala 154 izolátů kultur, které obsahovaly 86 organismů, které mohou být izolovány z urogenitálního traktu, a 68 dalších organismů, které představují fylogenetický průřez organismů. Další studie extragenitálních vzorků zahrnovala 44 mikroorganismů, které lze nalézt na extragenitálních stěrech. Testované organismy zahrnovaly bakterie, houby, kvasinky, parazity a viry.

V počáteční studii byly testovány všechny organismy kromě *C. psittaci*, *C. pneumoniae* a viry v množství $1,0 \times 10^6$ buněk/test ze stěru a v médiu pro přenos moči. Organismy Chlamydia a Neisseria byly testovány médiu s roztokem PreservCyt. *C. psittaci* a *C. pneumoniae* byly testovány při $1,0 \times 10^5$ IFU/test. Viry byly testovány následovně: (a) viry herpes simplex I a II: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) lidský papillomavirus 16: $2,9 \times 10^6$ kopií DNA / test a (c) cytomegalovirus: $4,8 \times 10^5$ infikovaných buněčných kultur / test.

Ve druhé studii byly všechny organismy testovány v STM. Všechny neviróvé izoláty byly testovány v koncentraci $1,0 \times 10^6$ CFU/ml kromě *Bacteriodes oralis*, *Fusobacterium necrophorum* a *Peptostreptococcus micros*, které byly testovány při $1,0 \times 10^6$ RNA kopiích / ml. Viry byly testovány při $1,0 \times 10^5$ TCID₅₀/ml s výjimkou skupiny Norovirus II: $1,0 \times 10^6$ TCID₅₀/ml, Enterovirus typu 68: $1,0 \times 10^4$ TCID₅₀/ml a viry chřipky, které byly testovány při $2,0 \times 10^3$ TCID₅₀/ml. Pouze vzorky CT a GC měly v testu Aptima Combo 2 Assay pozitivní výsledky. Seznam organismů testovaných v první studii uvádí Tabulce 15 a organismy testované ve druhé studii uvádí Tabulce 16.

Tabulka 15: 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>	Virus lidského papilomu 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 séroskupina A</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
Cytomegalovirus	<i>N. meningitidis séroskupina B</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>N. meningitidis séroskupina C</i> (4)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Derrxia gummosa</i>	<i>N. meningitidis séroskupina D</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>N. meningitidis séroskupina Y</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>N. meningitidis séroskupina W135</i>	<i>Streptomyces griseinus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria cinerea</i> (4)	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria 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)“ představuje počet testovaných kmenů.

Všechny testované organismy měly negativní výsledek v testu Aptima Combo 2 Assay založeném na typu kinetického profilu a RLU.

Tabulka 16: Zkřížené reaktivní mikroorganismy pro vzorky z krku a konečníku

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

Interferující látky

Následující interferující látky byly jednotlivě přidány standardním přídávkem (spikováním) do vzorků stěru a kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt: 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 přídávkem (spikováním) do vzorků moči: 30 % krev, analyty moči, bílkoviny, glukóza, ketony, bilirubin, dusičnan, urobilinogen, pH 4 (kyselý), pH 9 (alkalický), 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 CT a GC v odhadnutém ekvivalentu rRNA 1,0 CT IFU/test (5 fg/test) a 50 GC buněk/test (250 fg/test). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA : RNA / buňky každého organismu.

U žádné testované látky nebyla pozorována žádná interference. V testu Aptima Combo 2 Assay nebyly pozorovány žádné inhibitory amplifikace.

Výtěžnost

Escherichia coli a *Gardnerella vaginalis* ($2,4 \times 10^5$ buněk/test) a *Lactobacillus acidophilus*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides ureolyticus* a *Staphylococcus epidermis* ($1,0 \times 10^8$ buněk/test) byly přidány do vzorků obsahujících ekvivalent rRNA přibližně 1,0 CT IFU (5 fg) a 50 GC buněk (250 fg). Tyto přídávky neinterferovaly s amplifikací ani detekcí CT či GC rRNA při použití testu Aptima Combo 2 Assay.

Studie stability vzorku

A. Endocervikální stěry

Data pro podporu doporučených podmínek přepravy a skladování vzorků z endocervikálních stěrů byla vytvořena směsnými vzorky negativních stěrů. Pět směsných vzorků bylo naočkováno pomocí CT a GC v konečné koncentraci 10 IFU, resp. 100 CFU na reakci. Naočkované vzorky byly uchovány při -70°C , -20°C , 4°C a 30°C . Vzorky byly testovány dvojmo ve dnech 0, 20, 35, 60 a 90. Všechny podmínky testu byly pozitivní pro CT i GC po celou dobu a pro všechny teploty.

B. Kapaln  vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Data pro podporu doporu en ch podmínek přepravy a skladování kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt byla vytvořena směsnými negativními kapalnými vzorky Pap v roztoku PreservCyt.  ty i sm sn  vzorky byly označeny pomocí CT a GC v kone n  koncentraci 10 IFU, resp. 100 CFU na jednu reakci. Kapaln  vzorky Pap v roztoku PreservCyt byly uloženy při teplotě 30  C po dobu 7 dn , po kter  byl 1,0 ml vzorku přidán do transferov  zkusavky na vzorek Aptima. Nao kovan  vzorky byly uchovány při teplotě 4  C, 10  C a 30  C. Vzorky uchov van  při 4  C a 10  C byly testovány dvojmo ve dnech 0, 6, 13, 26, 30 a 36. Vzorky uchov van  při 30  C byly testovány dvojmo ve dnech 0, 5, 8, 14 a 17. Do transferových zkumavek na vzorek Aptima byly přidány čtyři nao kovan  skupiny kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt a byly uchovány při teplotě 30  C po dobu 14 dn  před ulo en m buď při teplotě -20  C, nebo -70  C. Vzorky o teplotě -20  C a vzorky o teplotě -70  C byly testovány dvojmo po skladování po dobu 0, 30, 60, 90 a 106 dn . Všechny podmínky testu byly pozitivní pro CT i GC po celou dobu a pro všechny teploty.

C. Vaginální stěry

Data pro podporu doporu en ch podmínek přepravy a skladování vzorků vaginálních stěrů byla vytvořena směsnými vzorky negativních stěrů. Patnáct skupin vaginálních stěrů bylo naočkováno pomocí CT a GC v kone n  koncentraci 1,0 IFU, resp. 50 CFU na jednu reakci. Nao kovan  vzorky byly uchovány při teplotě -70  C, -20  C, 4  C a 30  C. Vzorky byly testovány s použitím jedné alikvoty ve dnech 0, 20, 36, 73 a 114. Všechny podmínky testu byly pozitivní pro CT i GC po celou dobu a pro všechny teploty.

D. Vzorky moči

Data o podpoře doporu en ch podmínek přepravy a skladování vzorků moči byla generována pomocí deseti ženských a deseti mužských negativních vzorků moči. Vzorky moči byly označeny pomocí CT a GC v kone n  koncentraci 10 IFU, resp. 100 CFU na reakci. Dvě sady označených vzorků moči byly uchov van  při teplotě 4  C a 30  C po dobu 24 hodin před přidáním do média pro přepravu moči (UTM). Dvě sady vzorků UTM byly poté uchov van  při teplotě 4  C a 30  C a testovány třikrát ve dnech 0, 1, 5, 20 a 35. Všechny vzorky byly pozitivní jak na CT, tak GC, pokud byly vzorky moči uchovány při 4  C před přidáním UTM. Když byly vzorky moči uchov van  při teplotě 30  C před přidáním UTM, všechny vzorky byly pozitivní na CT a 95 % vzorků bylo pozitivních na GC v den 35. Tyto stejn  vzorky byly testovány po 116 dnech skladování při -20  C a -70  C. Všechny vzorky byly pozitivní jak na CT, tak GC za obou podmínek skladování.

E. Studie stability dodate n  zmrazených vzorků (při -20  C)

Data o podpoře doporu en ch podmínek skladování při -20  C v připadá endocervikálních stěrů, uretrálních stěrů, vaginálních stěrů,  ensk  moči, mu sk  moči a kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt byla vytvořena s použitím 90 vzorků pro každý typ s negativním výsledkem, při čemž 30 vzorků bylo naočkováno pomocí CT a GC při 1,0 IFU, resp. 50 CFU na reakci; 30 vzorků bylo naočkováno při 0,1 IFU, resp. 5 CFU na reakci; a 30 vzorků nebylo dotčeno. Vzorky byly skladovány při -20  C a byly testovány ve dnech 0, 200 a 400. Všechny vzorky spl n j  kritéria přijatelnosti s 95 % shodou s očekávanými výsledky.

Shoda klinických vzorků v systému Tigris DTS

Shoda v systému Tigris DTS

Shoda mezi výsledky testu Aptima Combo 2 Assay vygenerovanými v plně automatizovaném systému Tigris DTS a v poloautomatizovaných systémech DTS byla vyhodnocena testováním endocervikálního stěru, mužského uretrálního stěru, ženské a mužské moči, vaginálního stěru a kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt. Každý z klinických vzorků byl testován jednotlivě pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systému Tigris DTS a v systémech DTS ve společnosti Hologic.

Studie shody klinických vzorků – endocervikální stěr, mužský uretrální stěr a vzorky ženské a mužské moči

Muži a ženy, kteří navštěvují oddělení venerologie (STD), oddělení pro naléhavou péči, instituce veřejného zdraví a plánování rodiny, byli zařazeni do sedmi geograficky odlišných klinických pracovišť s nízkým až vysokým výskytem CT a GC. V klinické studii týkající se shody vzorků byla vyhodnocena shoda mezi těmito dvěma systémy pomocí vzorků ze stěrů a vzorků moči získaných od 485 mužů a 576 žen. Mezi 1991 testovanými vzorky se vyskytlo malé procento těch, které byly původně testovány jako neplatné nebo nejednoznačné na CT nebo GC v systému Tigris DTS (20, 1,0 %) a v systémech DTS (14, 0,7 %). Při opakovaném testování byly zjištěny dva (2) klinické vzorky s nejednoznačnými výsledky GC v systému Tigris DTS, které nejsou zahrnuty do výpočtů ekvivalence. Byla vypočítána celková procentuální shoda a procento pozitivních a negativních shod. Vzorky poskytující nesouhlasné výsledky mezi systémy DTS a systémem Tigris DTS byly testovány v alternativních TMA amplifikačních testech pro CT a GC, což jsou amplifikační testy nukleových kyselin (NAAT), které mají za cíl sekvence CT nebo GC rRNA, které se liší od sekvencí cíle testu Aptima Combo 2 Assay. Opakované testování pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systémech DTS bylo také provedeno na vzorcích, které daly v systému Tigris DTS a v systémech DTS nesouhlasné výsledky.

Tabulkách 17 a 18 ukazují celkovou procentuální shodu pro všechny párové výsledky testů získané na systému Tigris DTS a v systémech DTS pro vzorky ze stěru a vzorky moči. Celkové shody činily 98,3 % u vzorků ze stěrů a 99,2 % u vzorků moči. Viz Tabulkách 5a a 9a, kde jsou uvedeny odhady účinnosti testu Aptima Combo 2 pro endocervikální stěry, mužské uretrální stěry a vzorky moči a mužů testovaných v systémech DTS. Vzhledem ke zjištěným hodnotám shody se očekává, že odhady klinické účinnosti systému Tigris DTS budou pro endocervikální stěry, mužské uretrální stěry a vzorky moči mužů a žen podobné.

Studie shody klinických vzorků – Vzorky z vaginálních stěrů a kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Ženské subjekty, které navštěvují oddělení venerologie (STD), veřejného zdraví a gynekologie/porodnictví (OB/GYN), si nechaly odebrat vaginální stěr a kapalnou vzorek Pap v roztoku PreservCyt. Vzorky z vaginálního stěru byly přeneseny přímo do společnosti Hologic za účelem testování, zatímco kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt byly před přenosem zpracovány ve 2 cytopatologických laboratořích. V laboratoři Hologic byly nejprve testovány kapalně vzorky Pap v roztoku a PreservCyt pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systémech DTS. Vzorky s konečným neplatným nebo nejednoznačným výsledkem v systémech DTS nebyly vybrány pro další testování v systému Tigris DTS. Vzorky pozitivní v testu Aptima Combo 2 Assay a podskupina vzorků negativních v testu Aptima Combo 2 Assay byly vybrány pro porovnávací testování v systému Tigris DTS. V obou systémech bylo testováno sto sedmdesát (170) vaginálních stěrů a 170 kapalných vzorků Pap v roztoku

PreservCyt od 181 žen. Většina vzorků (110 vaginálních stěrů a 107 vzorků kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt) vybraných pro srovnávací testování pocházela od symptomatických žen. Bylo zavedeno sedmnáct (17) pracovních seznamů: 13 (76,5 %) bylo platných a 4 (23,5 %) byly znehodnoceny, protože přístroj detekoval vysoké pozadí na luminometru. Přístroj měl uvolněné armatury Detect 1 a 2, které mohly umožnit vniknutí vzduchu do hadiček nebo nesprávné množství vstříkovaných detekčních reagensů. Tyto pracovní listy byly platné při opakovaném testování. Ze 340 testovaných vzorků žádný z nich neměl počáteční neplatné nebo nejednoznačné výsledky testů v systému Tigris DTS.

Tabulkách 19 a 20 ukazují celkovou procentuální shodu pro detekci CT a GC u všech párových výsledků testů získaných v systémech Tigris DTS a DTS pro vaginální stěry a kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt. Celkové shody byly 98,2 % u vzorků z vaginálních stěrů a 98,2 % u vzorků Pap v roztoku PreservCyt. Viz Tabulkách 5b, 5c, 9b a 9c, kde jsou uvedeny odhady účinnosti testu Aptima Combo 2 Assay pro vzorky z vaginálního stěru a kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt testované v systémech DTS. Předpokládá se, že odhady klinické účinnosti pro systém Tigris DTS s vaginálním stěrem a kapalným vzorkem Pap v roztoku PreservCyt budou podle výsledků zjištěné shody podobné.

Studie shody klinického panelu CT/GC – Endocervikální stěr, mužský uretrální stěr a vzorky ženské a mužské moči

Studie shody klinického panelu CT/GC zhodnotila ekvivalenci mezi těmito dvěma systémy pomocí 13 klinických panelů CT/GC připravených společností Hologic obsahujících 0 až 2500 jednotek tvořících inkluze (IFU)/ml CT a/nebo 0 až 125 000 jednotek tvořících kolonie (CFU)/ml GC. Klinické panely CT/GC byly vytvořeny ze vzorků stěrů a moči získaných od 222 mužských a 117 ženských subjektů, které byly stanoveny jako neinfekční na základě stěru negativního v testu Aptima Combo 2 Assay a negativních výsledků vzorků moči v systému Systémy DTS. Každý ze 13 CT/GC panelů sestával z 5 replikátů každého typu vzorku (endocervikální stěr, mužský uretrální stěr, ženská moč, mužská moč) pro celkem 20 replikátů na panel.

Tabulka 21 ukazuje procentuální shodu s očekávanými výsledky CT a GC pro systém Tigris DTS a pro Systémy DTS pro každý ze 13 CT/GC panelů. Koncentrace se pohybovaly od 10 násobku až do 1000 násobku nad limity analytických požadavků testu Aptima Combo 2 Assay 1 IFU/test pro CT a 50 CFU/test pro GC. Tabulka 21 také uvádí celkovou procentuální shodu (99,3 %) mezi výsledky panelu CT/GC v systému Tigris DTS a systému DTS. Pozitivní a negativní shody uvádí Tabulkách 22 a 23 u jednotlivých panelů výsledků CT a GC. U panelů stěrů a moči byly pozitivní shody 100 %, resp. 96,2 % v případě CT, a 100 % u GC. Negativní shody se stěry a močí byly 100 %, resp. 98,0 % v případě CT, a 100 % v případě GC. Tři z 5 replikátů panelů ženské moči, které byly o jeden logaritmus pod požadavkem analytické citlivosti testu Aptima Combo 2 Assay 1 IFU/test pro CT, měly hodnotu CT– v systému Tigris. Jeden z pěti panelů ženské moči se replikuje ze samostatného panelu CT– v systému Systémy DTS.

Tabulka 17: Studie shody klinického vzorku: Výsledky vzorků z endocervikálních stěrů a mužských uretrálních stěrů¹

Systém Tigris DTS	Systémy DTS				Celkem
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	30	0	0	0	30
CT+/GC-	0	108	0	2 ⁵	110
CT-/GC+	1 ²	0	67	0	68
CT-/GC-	0	12 ³	2 ⁴	796	810
Celkem	31	120	69	798	1018
Procentuální shoda (95 % CI)	96,8 % (83,3–99,9)	90,0 % (83,2–94,7)	97,1 % (89,9–99,6)	99,7 % (99,1–100)	NA
Celková procentuální shoda (95 % CI): 98,3 % (97,3–99,0)					

+ označuje pozitivní, – označuje negativní, NA = nelze použít.

¹Nezobrazené údaje: Dva vzorky testovány jako CT-/GC nejednoznačně v systému Tigris a systému Systémy DTS. Jeden vzorek testován jako CT-/GC- v systému Tigris DTS, ale CT-/GC nejednoznačný v systému Systémy DTS. Při opětovném testování pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systému Systémy DTS byl tento vzorek CT-/GC-. Vzorek měl také výsledek GC- v alternativním TMA amplifikačním testu.

²1/1 měl výsledek CT+/GC+, když byl znovu testován v systému Systémy DTS a měl výsledek CT+ v alternativním TMA amplifikačním testu.

³11/12 bylo testováno znovu. 11/11 mělo výsledek CT-/GC-, když byly znovu testovány pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systému Systémy DTS. 9/11 mělo výsledek CT-, když byly testovány v alternativním TMA amplifikačním testu, a 2/11 mělo výsledek CT+.

⁴2/2 měly výsledek CT-/GC- pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systému Systémy DTS a měly výsledek GC- v alternativním amplifikačním testu TMA.

⁵2/2 mělo výsledek CT-/GC-, když byly znovu testovány pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systému Systémy DTS, a mělo výsledek CT- v alternativním TMA amplifikačním testu.

Tabulka 18: Studie shody klinického vzorku: Výsledky vzorku ženské a mužské moči

Systém Tigris DTS	Systémy DTS				Celkem
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	32	0	0	0	32
CT+/GC-	0	100	0	1 ³	101
CT-/GC+	0	0	52	0	52
CT-/GC-	0	8 ¹	1 ²	776	785
Celkem	32	108	53	777	970
Procentuální shoda (95 % CI)	100 % (89,1–100)	92,6 % (85,9–96,7)	98,1 % (89,9–100)	99,9 % (99,3–100)	NA
Celková procentuální shoda (95 % CI): 99,2 % (98,1–99,5)					

+ označuje pozitivní, – označuje negativní, NA = nelze použít.

¹7/8 mělo výsledek CT-/GC-, když byly znovu testovány pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systému Systémy DTS, a mělo výsledek CT- v alternativním TMA amplifikačním testu.

¹8 mělo výsledek CT+/GC-, když byly znovu testovány pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systému Systémy DTS, a CT+ v alternativním amplifikačním testu TMA.

²1/1 byl CT-/GC-, když byl znovu testován pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systému Systémy DTS, a byl GC- v alternativním TMA amplifikačním testu.

³1/1 byl CT-/GC-, když byl znovu testován pomocí testu Aptima Combo 2 Assay v systému Systémy DTS, a byl CT+ v alternativním TMA amplifikačním testu.

Tabulka 19: Studie shody shodě klinického vzorku: Výsledky vzorků vaginálních stěrů

Systém Tigris DTS	Systémy DTS				Celkem
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	26	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	2	46
CT-/GC+	0	0	24	0	24
CT-/GC-	0	0	1	73	74
Celkem	26	44	25	75	170
Procentuální shoda (95 % CI)	100 % (86,8–100)	100 % (92,0–100)	96,0 % (79,6–99,9)	97,3 % (90,7–99,7)	NA
Celková procentuální shoda (95 % CI): 98,2 % (94,9–99,6)					

+ označuje pozitivní, - označuje negativní, NA = nelze použít.

Tabulka 20: Studie shody klinického vzorku: Výsledky testu kapalných vzorků Pap PreservCyt

Systém Tigris DTS	Systémy DTS				Celkem
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	26	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	1	45
CT-/GC+	0	0	24	0	24
CT-/GC-	0	1	1	73	75
Celkem	26	45	25	74	170
Procentuální shoda (95 % CI)	100 % (86,8–100)	97,8 % (88,2–99,9)	96,0 % (79,6–99,9)	98,6 % (92,7–100)	NA
Celková procentuální shoda (95 % CI): 98,2 % (94,9–99,6)					

+ označuje pozitivní, - označuje negativní, NA = nelze použít.

Tabulka 21: Studie shody klinického panelu CT/GC: Shoda s očekávanými výsledky CT a GC pro endocervikální stěr, mužský uretrální stěr a panely ženské a mužské moči

Člen panelu CT/GC	Koncentrace člena panelu ¹		Replikáty	CT		GC	
	CT IFU/ml	GC CFU/ml		Tigris % shoda	DTS % shoda	Tigris % shoda	DTS % shoda
Nízká/nízká	2,5	125	20	100	100	100	100
Nízká/vysoká	2,5	125 000	20	100	95 ³	100	100
Vysoká/nízká	2500	125	20	100	100	100	100
Vysoká/vysoká	2500	125 000	20	100	100	100	100
Velmi nízká / neg	0,25 ²	0	20	85 ⁴	100	100	100
Nízká/neg	2,5	0	20	100	100	100	100
Střední/neg	25	0	20	100	100	100	100
Vysoká/neg	2500	0	20	100	100	100	100
Neg / velmi nízká	0	12,5	20	100	100	100	100
Neg/nízká	0	125	20	100	100	100	100
Neg/střední	0	1250	19	100	100	100	100
Neg/vysoká	0	125 000	20	100	100	100	100
Neg/neg	0	0	20	100	100	100	100
Celková procentuální shoda mezi systémy Tigris a DTS (95 % CI): 99,3 % (98,3–99,8)							

IFU = jednotky tvořící inkluze, CFU = jednotky tvořící kolonii, Tigris % shoda = shoda Tigris s očekávanými výsledky, DTS % shoda = shoda DTS s očekávanými výsledky.

¹Odběrová zkumavka obsahuje přibližně 2,9 ml transportního média pro vzorky ze stěru a 4,0 ml směsi transportního média / moči pro vzorky moči.

²Koncentrace CT v tomto členu klinického panelu CT/GC je o jeden logaritmus pod požadavkem analytické citlivosti testu Aptima Combo 2 Assay 1 IFU/test (7,25 IFU/stěr, 5 IFU/ml moči).

³Jeden z 5 replikátů panelů ženské moči měl hodnotu CT- v systému Systémy DTS.

⁴Tři z 5 replikátů panelů ženské moči měly hodnotu CT- v systému Tigris.

Tabulka 22: Studie shody klinického panelu CT/GC: Výsledky CT pro endocervikální a mužské uretrální stěry a panely ženské a mužské moči

Vzorek	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Pozitivní shoda (95 % CI)	Negativní shoda (95 % CI)
Stěr	129	80	0	0	49	100 (95,5–100)	100 (92,7–100)
Moč	130	76	3 ¹	1 ²	50	96,2 (89,3–99,2)	98,0 (89,6–100)

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

¹Tři z 5 replikátů panelů ženské moči, které byly o jeden logaritmus pod požadavkem analytické citlivosti testu Aptima Combo 2 Assay 1 IFU/test pro CT, měly hodnotu CT- v systému Tigris.

²Jeden z 5 replikátů panelů ženské moči měl hodnotu CT- v systému Systémy DTS.

Tabulka 23: Studie shody klinického panelu CT/GC: Výsledky GC pro endocervikální a mužské uretrální stěry a panely ženské a mužské moči

Vzorek	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Pozitivní shoda (95 % CI)	Negativní shoda (95 % CI)
Stěr	129	79	0	0	50	100 (95,4–100)	100 (92,9–100)
Moč	130	80	0	0	50	100 (95,5–100)	100 (92,9–100)

+ označuje pozitivní, - označuje negativní, CI = interval spolehlivosti, Tigris = Tigris DTS.

Studie přesnosti

Přesnost systému Tigris DTS (tj. reprodukovatelnost) byla hodnocena na jednom externím klinickém pracovišti a ve společnosti Hologic. Přesnost testu Aptima Combo 2 Assay byla vyhodnocena ve třech systémech Tigris, dvou studijních pracovištích, dvou šaržích testu Aptima Combo 2 Assay a u čtyř operátorů. Tabulka 24 zobrazuje data týkající se přesnosti RLU ve smyslu průměru, směrodatné odchylky, variačního koeficientu (CV) a procentuální shody s očekávanými výsledky pro výpočet variability mezi jednotlivými pracovišti, mezi operátory, mezi šaržemi, mezi běhy a v rámci běhu.

Na externím pracovišti dva operátoři připravili tři pracovní seznamy (tj. běhy) na každou šarži testu Aptima Combo 2 Assay v jednom systému Tigris DTS, přičemž každý z nich zpracoval celkem 6 pracovních seznamů. Ve společnosti Hologic dva operátoři připravili tři pracovní seznamy pro každou šarži testu Aptima Combo 2 Assay, na každém ze dvou systémů Tigris DTS, přičemž každý z nich zpracoval celkem 12 pracovních seznamů. Celkově bylo tedy sestaveno celkem 36 pracovních seznamů. Každý pracovní seznam byl složen ze šesti identických 12členných panelů přesnosti obsahujících 0 až 2000 fg/test CT rRNA a/nebo 0 až 2433 fg/test GC rRNA. Každý pracovní seznam byl složen ze šesti identických 12členných panelů přesnosti obsahujících 0 až 2000 fg/test CT rRNA a/nebo 0 až 5000 fg/test GC rRNA. Členy panelu obsahující CT a GC byly rozděleny do kategorií, které mají nízkou (5 nebo 100 fg/test), střední (1000 fg/test) nebo vysokou (≥ 2000 fg/test) koncentraci CT a nízkou (≤ 250 fg/test), střední (přibližně 2400 fg/test) nebo vysokou (5000 fg/test) koncentraci GC. Reprodukovatelnost byla stanovena naočkováním rRNA do transportního média. Reprodukovatelnost při testování vzorků ze stěrů a vzorků moči obsahujících cílový organismus nebyla stanovena. Přesnost byla odhadnuta podle pokynů NCCLS EP5-A (32).

Tabulka 24: Údaje o přesnosti systému Tigris DTS

Konc.		Průměr RLU (x 1000)		% Shoda	V rámci běhu		Mezi pracovišti		Mezi šaržemi		Mezi operátory		Mezi běhy	
CT	GC	N			SD (RLU x 1000)	CV (%)	SD (RLU x 1000)	CV (%)	SD (RLU x 1000)	CV (%)	SD (RLU x 1000)	CV (%)	SD (RLU x 1000)	CV (%)
Neg	Neg	647	4	100	1,25	26,2	0,66	13,9	0,05	1,0	0,08	1,7	0,30	6,4
Neg	Vysoká	215	1 216	100	28,5	2,3	61,2	5,0	10,0	0,8	0	0	17,1	1,4
Vysoká	Neg	216	1 266	100	38,8	3,0	0	0	93,1	7,3	40,8	3,2	40,4	3,1
Vysoká	Vysoká	210	2 445	100	54,2	2,2	40,0	1,6	110,3	4,5	28,4	1,1	52,3	2,1
Neg	Nízká ¹	217	1 132	100	30,3	2,6	61,0	5,3	0	0,0	20,7	1,8	18,5	1,6
Nízká ¹	Neg	214	1 053	100	72,8	6,9	1,5	0,1	73,8	7,0	28,5	2,7	26,9	2,5
Střední	Střední	214	2 429	100	48,8	2,0	40,0	1,6	101,1	4,1	0	0	52,9	2,1
Nízká ¹	Nízká ¹	216	2 112	99,5	112,3	5,3	84,1	3,9	33,2	1,5	34,2	1,6	52,9	2,5
Nízká ¹	Vysoká	216	2 282	100	77,3	3,3	97,8	4,2	59,3	2,6	0	0	41,7	1,8
Vysoká	Nízká ¹	215	2 318	100	61,1	2,6	50,7	2,1	86,2	3,7	4,6	0,2	42,4	1,8

SD = směrodatná odchylka, %CV = procentní variační koeficient, % shoda. = procentuální shoda, konc. = koncentrace.

Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně negativní, což může nastat, pokud je variabilita způsobená těmito faktory velmi malá. Pokud k tomu dojde, variabilita změřená se směrodatnou odchylkou a %CV je nastavena na 0. Viz návod schválený NCCLS EP5-A (32).

¹Nízké členy panelu byly označeny v souladu s požadavkem na analytickou citlivost testu (5 fg CT rRNA / test, 250 fg GC rRNA / test nebo obojí pro dvojité pozitivní členy panelu). U CT je testovaná cílová hladina ekvivalentní přibližně 36 fg/stěr a 25 fg/ml moči. U GC je testovaná cílová hladina ekvivalentní přibližně 1800 fg/stěr a 1250 fg/ml moči. Na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA : RNA / buňky každého organismu je 5 fg ekvivalent 1 IFU CT a 250 fg je ekvivalent 50 buněk GC.

Analytická účinnost systému Tigris DTS

Viz část *Analytická účinnost systému Panther*, kde naleznete informace o analytické účinnosti systému Panther.

Studie ekvivalence analytické citlivosti

Ředění tří CT sérovarů (E, F, G) spojených s urogenitální chorobou bylo testováno na třech přístrojích systému Tigris DTS a paralelně na systémech DTS. CT sérovary byly zředěny do transportního média pro stěry a do směsného vzorku zpracované moči. Koncentrace se pohybovaly v rozmezí od 3 jednotek tvořících inkluze (IFU) na test až po 0,1 IFU na test, což je o jeden logaritmus nižší než požadavek analytické citlivosti pro test jedné IFU na test (7,25 IFU/stěr, 5 IFU/ml moči). Procentuální pozitivita mezi systémy Tigris DTS a DTS byla ekvivalentní 95 % intervalu spolehlivosti pro všechny tři sérovary až k hladině deklarované analytické citlivosti. Ředění pod touto úrovní byly také pozitivně testovány na obou platformách. Celkově byla prokázána srovnatelná citlivost u detekční hladiny jednoho IFU na test mezi systémem Tigris DTS a systémem Systémy DTS.

Jeden panel citlivosti ve skupině vaginálních vzorků a jeden panel citlivosti ve skupině následně zpracovaných kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt byly připraveny na CT 5 fg rRNA a testováno bylo 60 replikátů v systému Tigris DTS. Procentuální pozitivita (95 % CI) v systému Tigris DTS pro vzorek z vaginálního stěru byla 100 % (95,1–100) a následně zpracovaný vzorek Pap v roztoku PreservCyt byl 100 % (95,1–100).

Tři rozředěné klinické izoláty GC byly testovány ve třech systémech Tigris DTS a paralelně v systému Systémy DTS. Izoláty GC byly zředěny do transportního média pro stěry a do směsného vzorku zpracované moči. Koncentrace se pohybovaly v rozmezí od 150 buněk na test až po 5 buněk na test, což je o jeden logaritmus pod požadavkem analytické citlivosti pro test 50 buněk/test (362 buněk/stěr, 250 buněk/ml moči). Procentuální pozitivita mezi systémem Tigris DTS a Systémy DTS byla 95 % spolehlivosti u všech tří izolátů až k hladině deklarované analytické citlivosti. Ředění pod touto úrovní byly také pozitivně testovány na obou platformách. Celkově byla prokázána srovnatelná citlivost při detekční hladině 50 buněk na test mezi systémem Tigris DTS a Systémy DTS.

Jeden panel citlivosti ve směsných vaginálních vzorcích a jeden panel citlivosti ve směsných následně zpracovaných kapalných vzorcích Pap v roztoku PreservCyt byly připraveny na GC 250 fg rRNA a testováno bylo 60 replikátů v systému Tigris DTS. Procentuální pozitivita (95 % CI) v systému Tigris DTS pro vzorek z vaginálního stěru byla 100 % (95,1–100) a následně zpracovaný vzorek Pap v roztoku PreservCyt byl 100 % (95,1–100).

Studie klinického panelu CT/GC označeného rRNA – Vaginální stěr a kapalně vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Studie klinického panelu CT/GC označeného rRNA hodnotila shodu mezi těmito dvěma systémy s použitím dvou klinických panelů CT/GC připravených společností Hologic, které byly označeny 0 až 5000 fg rRNA / test CT a/nebo 0 až 250 000 fg rRNA / test GC. Klinické panely CT/GC byly vytvořeny z vaginálního stěru a kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt získaných od 309 žen, jejichž vzorky měly v testu Aptima Combo 2 Assay negativní výsledky v systémech DTS při testování v laboratoři Hologic. Negativní vzorky byly smíšeny podle typu vzorku, označeny nebo neoznačeny pomocí CT a/nebo GC rRNA a alikvotovány jako replikáty každého členu panelu. Replikáty každého ze 13 členů panelů s různými úrovněmi označeného rRNA byly kombinovány, aby se vytvořil jeden klinický panel pro každý typ vzorku. Každý panel obsahoval celkem 132 replikátů.

Jeden replikát vaginálního stěru z členu panelu o velmi nízké koncentraci CT (0,05 fg rRNA / test) měl nejednoznačný výsledek CT v systémech DTS.

Tabulka 25 ukazuje procentuální shody pro každou hladinu rRNA v panelech vaginálních stěrů a kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt s očekávanými výsledky CT a GC pro systém Tigris DTS a pro systémy DTS. Koncentrace se pohybovaly od 1 logaritmu pod až po 3 logaritmy nad 5 fg rRNA / test pro CT a 250 fg rRNA/test pro GC. Tabulka 25 rovněž uvádí celkovou procentuální shodu (99,2 % u panelu s vaginálními stěry a 100 % u panelu kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt).

Tabulka 25: Studie klinického panelu CT/GC označeného rRNA: Shoda s očekávanými výsledky CT a GC pro panel s vaginálními stěry a panel s kapalnými vzorky Pap v roztoku PreservCyt

Člen panelu CT/GC	Koncentrace (fg rRNA / test)		Replikáty	Panel vaginálních stěrů				Panel kapalného vzorku Pap v roztoku PreservCyt			
	CT	GC		CT		GC		CT		GC	
				Tigris % shoda	DTS % shoda	Tigris % shoda	DTS % shoda	Tigris % shoda	DTS % shoda		
Nízká/nízká	5	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nízká/vysoká	5	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Vysoká/nízká	5000	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Vysoká/vysoká	5000	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Velmi nízká/ neg	0,5	0	10	100	88,9 ¹	100	100	100	100	100	100
Nízká/neg	5	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Střední/neg	50	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Vysoká/neg	5000	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/velmi nízká	0	25	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/nízká	0	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/střední	0	2500	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/vysoká	0	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/neg	0	0	12	100	100	100	100	100	100	100	100
				Celková procentuální shoda mezi systémy Tigris a DTS (95 % CI): 99,2 % (95,8–100)				Celková procentuální shoda mezi systémy Tigris a DTS (95 % CI): 100 % (97,2–100)			

DTS % shoda = shoda mezi DTS a očekávanými výsledky, Tigris % shoda = shoda mezi Tigris DTS a očekávanými výsledky.
¹1/10 replikátů mělo nejednoznačné výsledky CT v systémech DTS a bylo z této analýzy vyloučeno. 8/9 bylo souhlasných s očekávanými výsledky. 1/9 byl CT- v systémech DTS. Koncentrace CT tohoto členu panelu je 1 logaritmus pod 5 fg rRNA / test.

Studie ekvivalence 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 Combo 2 Assay jsou totožné mezi systémem Tigris DTS a Systémy DTS, experimenty s analytickou specificitou v systému Tigris DTS 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 čtyři (24) izolátů kultur bylo vybráno z panelu organismů v Tabulce 15, včetně 3 organismů, které jsou nejbližší příbuzné s CT, a 17 organismů, které jsou nejbližší příbuzné s GC. Všechny testované organismy měly negativní výsledky v systému Tigris DTS.

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 Tigris DTS a rovnocennosti mezi systémem Tigris DTS a systémy DTS s ohledem na tento potenciální interferent. Čerstvá krev byla přidána do skupin klinických stěrů, vaginálních stěrů, následně zpracovaných kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt a vzorků moči a poté byla testována z hlediska potenciální interference testu v nepřítomnosti a přítomnosti cíle CT a GC. Odhadovaný ekvivalent rRNA jednoho CT IFU/test (5 fg/test) a 50 GC buněk / test (250 fg/test) byl použit, protože představoval analytickou citlivost testu. Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA : RNA / buňku každého organismu. Vzorky byly testovány na dvou systémech Tigris DTS. Všechny vzorky obsahující cílovou nukleovou kyselinu byly pozitivní při testování na úrovni 10 % (obj./obj.) krve ve vzorcích stěrů, vzorcích vaginálních stěrů, kapalných vzorcích Pap v roztoku PreservCyt a 30 % (obj./obj.) krve ve vzorcích moči. Všechny vzorky, které neobsahovaly cíl, byly správně identifikovány jako negativní na CT i GC. Tyto výsledky jsou shodné s výsledky, které byly demonstrovány u systémů DTS přidáním stejného množství krve.

Krev přidaná do vzorků ze stěrů, vaginálních stěrů, následně zpracovaných kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt a vzorků moči v mnohem vyšších koncentracích, než by se dalo očekávat při normálním odběru vzorků, neovlivnila výsledky systému Tigris DTS.

Studie přenosu v systému Tigris DTS

Pro zjištění, že systém Tigris DTS minimalizuje riziko falešně pozitivních výsledků vyplývajících z přenosu kontaminace, byla provedena vícedenní analytická studie s využitím označených panelů tří systémů Tigris DTS. Při studii bylo použito 20 % vzorků s vysokým cílem GC obsahujících $1,0 \times 10^9$ buněk/reakce, které byly náhodně rozmístěny mezi 80 % negativních vzorků obsahujících transportní médium. V průběhu studie bylo testováno 1372 vzorků s vysokým cílem a 5516 negativních vzorků ve třech systémech Tigris DTS. Celková míra přenosu, zahrnující jak falešně pozitivní, tak nejednoznačné výsledky, činila průměrně 0,3 % (18/5491). Celkem 25 negativních vzorků bylo označeno za neplatné a vyloučeno z výpočtu. Byla provedena samostatná analýza podskupiny studované populace tvořené negativními vzorky, které bezprostředně následovaly pozitivní vzorky s vysokým cílem. Míra přenosu pro tuto podskupinu populace, včetně falešně pozitivních a nejednoznačných výsledků, činila v průměru 1,1 % (12/1097). U falešně pozitivních vzorků v této podskupině se míra přenosu pohybovala od 0 % do 1,1 % v rámci tří systémů Tigris DTS. Kvůli nejednoznačným parametrům v této podskupině se míra přenosu pohybovala v rozmezí od 0 % do 0,9 % v rámci tří systémů Tigris DTS. Tyto výsledky ukazují, že přenos kontaminace je v systému Tigris DTS omezený.

Analytická účinnost systému Panther**Klinická studie shody s označeným panelem**

Jednotlivé negativní vzorky moči byly označeny pomocí CT sérovarů G, GC nebo kombinace CT a GC pro vytvoření panelu 120 CT pozitivních, 120 GC pozitivních a 120 dvojitých pozitivních členů panelu. K CT pozitivním členům panelu byly označeny organismy při koncentraci 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml nebo 25 IFU/ml (0,5 fg/test, 5 fg/test nebo 50 fg/test). Ke GC pozitivním členům panelu byly označeny organismy při koncentraci 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml nebo 1250 CFU/ml (25 fg/test, 250 fg/test nebo 2500 fg/test). Dvojitě pozitivní členové panelu byly označeny CT organismy při koncentraci 2,5 IFU/ml (5 fg/test) a GC organismy při 2 500 000 CFU/ml (5 000 000 fg/test) nebo CT při 25 IFU/ml (50 fg/test) a GC při 125 CFU/ml (250 fg/test) nebo CT při 2,5 IFU/ml (5 fg/test) a GC při 125 CFU/ml (250 fg/test). Dále bylo odebráno 120 vzorků moči CT a GC negativních. Pozitivní a negativní panely byly testovány na třech systémech Panther a třech systémech Tigris DTS. Kladná procentuální shoda mezi systémem Panther a systémem Tigris DTS byla 100 % s nižším 95 % intervalem spolehlivosti 99,5 pro CT a GC. Záporná procentuální shoda mezi systémem Panther a systémem Tigris DTS byla 99,9 % s nižším 95 % intervalem spolehlivosti 99,5. Výsledky studie uvádí Tabulce 26.

Tabulka 26: Klinická studie shody s označeným panelem: Shoda s očekávanými výsledky CT a GC

Člen panelu	Koncentrace (IFU nebo CFU/ml)		Koncentrace (fg/test)		Replikáty	CT		GC	
	CT	GC	CT	GC		Tigris % shoda	Panther % shoda	Tigris % shoda	Panther % shoda
Panely CT/GC^{1,2}									
Nízká/nízká	2,5	125	5	250	90	100	100	100	100
Střed/střed	25	1250	50	2500	90	100	100	100	100
Nízká/vysoká	2,5	2 500 000	5	5 000 000	90	100	100	100	100
Vysoká/nízká	25 000	125	50 000	250	90	100	100	100	100
Panely GC^{2,3}									
Neg / velmi nízká	0	12,5	0	25	117*	100	100	100	100
Neg/nízká	0	125	0	250	120	100	100	100	100
Neg/střední	0	1250	0	2500	120	100	99,2	100	100
Panely CT^{1,3}									
Velmi nízká / neg	0,25	0	0,5	0	120	100	100	100	100
Nízká/neg	2,5	0	5	0	120	100	100	100	100
Střední/neg	25	0	50	0	120	100	100	100	100
Negativní panely³									
Neg/neg	0	0	0	0	360	100	100	99,7	99,7

*Jeden člen panelu byl vyroben nesprávně a byl vyloučen z analýzy.

¹Celková CT pozitivní procentuální shoda mezi systémy Tigris a Panther (95 % CI): 100 % (99,5–100).

²Celková GC pozitivní procentuální shoda mezi systémy Tigris a Panther (95 % CI): 100 % (99,5–100).

³Celková negativní procentuální shoda mezi systémy Tigris a Panther (95 % CI): 99,9 % (99,5–100).

Studie analytické citlivosti

Analytická citlivost testu Aptima Combo 2 Assay byla testována pomocí tří reprezentativních maticí vzorků. Jednalo se o moč zpracovanou médiem pro transport moči (UTM), kapalným vzorkem Pap v roztoku PreservCyt zředěným médiem pro transport stěru (STM) a STM. CT a GC rRNA byly označeny do skupin těchto tří matic při následujících koncentracích RNA ekvivalentu 0,5 fg/test, 5 fg/test a 50 fg/test (ekvivalenty rRNA 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml nebo 25 IFU/ml) pro CT nebo 25 fg/test, 250 fg/test nebo 2500 fg/test pro GC (ekvivalenty rRNA 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml nebo 1250 CFU/ml). Ekvivalenty rRNA byly vypočteny na základě velikosti genomu a odhadovaného poměru DNA : RNA / buňku každého organismu. Tyto panely byly testovány ve třech systémech Panther za použití tří šarží reagentů v 96 replikátech. Byla vypočítána shoda s očekávaným výsledkem. Shoda s očekávanými výsledky byla 100 % (95 % CI 96,1–100 %) u všech panelů moči, 100 % (95 % CI 96,0–100 %) u všech panelů kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt a 100 % (95 % CI 96,1–100 %) u všech panelů STM. Analytická citlivost testu je 2,5 IFU/ml pro CT a 125 CFU/ml pro GC.

Studie reprodukovatelnosti

Přesnost testu Aptima Combo 2 Assay byla hodnocena ve třech systémech Panther a ve třech šaržích souprav testu Aptima Combo 2 Assay během 24 dnů. Panely byly vyrobeny označením CT a/nebo GC rRNA do STM v koncentracích uvedených v Tabulce 27. Operátoři provedli dva běhy denně pro každý člen panelu ve dvou replikátech na jednu sérii. Byla vypočítána shoda s očekávaným výsledkem a přesnost byla odhadnuta podle pokynů NCCLS EP5-A2 (34). Celkový počet replikátů pro každý panel byl 96. Tabulce 27 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 běhu a také celkovou variabilitu.

Tabulka 27: Přesnost systému Panther pro test Aptima Combo 2 Assay

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

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 %.

* Celkový počet replikátů pro každý panel = 96. Ve vybraných sériích nebyly opakovaně testovány jednotlivé neplatné replikáty.

Analytická specifita

Analytická specifita nebyla testována v systému Panther. Prostudujte si část *Analytická účinnost systému Tigris DTS*, kde je blíže popsáno téma *Studie ekvivalence analytické specifity*.

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 CT a GC. Odhadované ekvivalenty rRNA jednoho testu CT IFU/test (5 fg/test) a 50 GC buněk/test (250 fg/test) byly použity jako cílové koncentrace, protože představují 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 z hlediska CT i GC. Tyto výsledky jsou shodné s výsledky, které byly demonstrovány u systému Tigris DTS při přidání stejného množství krve. Krev přidaná do vzorků stěrů, v roztoku PreservCyt a vzorků moči v mnohem vyšších koncentracích, než se očekávalo při normálním odběru vzorků, neovlivnila výsledky systému Panther.

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 2936 negativními vzorky. Celková výskyt přenosu byl 0 % s 95 % intervalem spolehlivosti 0–0,1 %. Čtyři negativní vzorky byly označeny jako neplatné a vyloučeny z výpočtu.

Typy extragenitálních vzorků (vzorky se stěry z krku a rekta)

Shrnutí

Souhrnně níže uvedené analytické a klinické údaje podporují použití testu Aptima Combo 2 Assay k testování vzorků ze stěrů z rekta a krku pro kvalitativní detekci a diferenciaci ribozomální RNA (rRNA) z *Chlamydia trachomatis* (CT) a/nebo *Neisseria gonorrhoeae* (GC) pomáhající při diagnostice chlamydiových a/nebo gonokokových onemocnění.

Analytická citlivost

95 % detekční limit extragenitálních stěrů s testem Aptima Combo 2 Assay byl určen pro stěry z krku a rekta. Dva CT sérovary (E a G) a dva klinické GC izoláty byly označeny do skupin těchto stěrů. Panely byly testovány ve dvou systémech Panther s použitím jedné dávky reagentie alespoň ve 20 replikátech během osmi dnů.

95 % hranice detekce pro stěry v krku je 0,005 IFU/ml (95 % CI 0,003–0,020) pro CT a 0,10 CFU/ml (95 % CI 0,09–0,13) pro GC. 95 % hranice detekce pro rektální stěry je 0,007 IFU/ml (95 % CI 0,005–0,023) pro CT a 0,10 CFU/ml (95 % CI 0,09–0,12) pro GC.

Údaje o klinické účinnosti

Údaje o klinické účinnosti byly vyhodnoceny z 15 článků odborné literatury (1, 2, 3, 13, 16, 19, 21, 28, 31, 35, 36, 42, 43, 46, 47), z nichž každý uvádí použití testu Aptima Combo 2 Assay při testování extragenitálních vzorků.

U vzorků CT ze stěrů v krku byly ve studiích zjištěny bodové odhady 100 % pro citlivost a 100 % pro specifitu (35). U vzorků CT z rektálních stěrů byly ve studiích zjištěny odhady citlivosti v rozmezí od 71 % do 100 % a od 95,6 % do 100 % (1, 2, 3, 13, 31, 35).

U vzorků GC ze stěrů v krku vykazovaly studie odhady citlivosti v rozmezí od 88,2 % do 100 % a odhady specifity od 87,8 % do 100 % (2, 35). U vzorků GC z rektálních stěrů byly ve studiích zjištěny odhady citlivosti v rozmezí od 75 % do 100 % a odhady specifických bodů v rozmezí od 87,9 % do 100 % (3, 13, 21, 31, 35, 42).

Zkřížená reaktivita mikroorganismů

Seznam mikroorganismů testovaných na zkříženou reaktivitu ze stěrů v krku a rekta je uveden v tabulce 16.

Potenciální interferující látky

Následující interferující látky, které lze nalézt v extragenitálních stěrech, byly jednotlivě označeny do STM: lék na opary, balzám na rty, krém na hemoroidy, lidská stolice, lék proti kašli, zubní pasta, ústní voda, laxativní čípky, léky proti průjmům a antacida. Všechny byly testovány na potenciální interferenci testu v nepřítomnosti a přítomnosti CT a GC při 3x 95 % limitu detekce typu vzorku. Vzorky označené pomocí CT a GC vykazovaly alespoň 95 % pozitivitu v přítomnosti těchto látek. Látky, které nebyly označeny pomocí CT nebo GC, neposkytly pozitivní výsledek v případě CT ani GC.

Manipulace s vzorkem a stabilita

Byla vytvořena data pro podporu doporučených podmínek uchování vzorků z extragenitálních stěrů se směsnými negativními vzorky ze stěrů. Skupiny vzorků z rekta a krku byly označeny pomocí CT a GC v koncentracích 2x 95 % limitu detekce pro každý typ vzorku ze stěru. Označené vzorky byly uchovávány při teplotě -70 °C, -20 °C, 4 °C a 30 °C. Vzorky byly testovány ve dnech 0, 8, 15, 23, 36 a 60. Všechny podmínky testu byly nejméně 95 % pozitivní pro CT i GC po celou dobu a pro všechny teploty.

Literatura

1. **Alexander S et al.** 2007. *Confirming the Chlamydia trachomatis status of referred rectal specimens.* Sex Transm Infect. Jul 83(4):327-9. Epub 2007 May 2.
2. **Alexander S et al.** 2008. Self-taken pharyngeal and rectal swabs are appropriate for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in asymptomatic men who have sex with men. Sex Transm Infect. Nov 84(6):488-92.
3. **Bachmann LH et al.** 2010. Nucleic Acid Amplification Tests for Diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* Rectal Infections. J. Clin. Microbiol. 48(5):1827.
4. **Beem, M. O., and E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. NEJM 296:306-310.
5. **Berger R, Alexander E, Harnisch J et al.** 1979. Etiology, manifestations and therapy of acute epididymitis: prospective study of 50 cases. J Urol, 121(6), 750-754.
6. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, and H. H. Lee.** 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. J. Clin. Microbiol. 34:2395-2400.
7. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. Am. J. Obstet. Gynecol. 164:1771-1781.
8. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. 51 (RR-15).
9. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2016. Reported STDs in the United States, 2015 National Data for Chlamydia, Gonorrhea, and Syphilis. CDC Fact Sheet.
10. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano, and J. B. Mahony.** 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. Mol. Cell. Probes. 11:243-249.
11. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. J. Clin. Microbiol. 33:3111-3114.
12. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrich, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen processing and concentration of *Chlamydia trachomatis* added can influence false-negative rates in the LCx assay but not in the Aptima Combo 2 Assay when testing for inhibitors. J. Clin. Microbiol. 41:778-782.
13. **Cosentino LA et al.** 2012. Use of nucleic acid amplification testing for diagnosis of anorectal sexually transmitted infections. J Clin Microbiol. Jun 50(6): 2005-2008.
14. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos, and T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Hologic AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. J. Clin. Microbiol. 36:391-394.
15. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. 37:386-390.
16. **Freeman AH et al.** 2011. Evaluation of self-collected versus clinician-collected swabs for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* pharyngeal infection among men who have sex with men. Sex Transm Dis. Nov 38(11):1036-1039.
17. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. Journal of Pediatrics 95:28-32.
18. **Gaydos, C. A., T.C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the Aptima Combo 2 Assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. J. Clin. Microbiol. 41:304-309.
19. **Geiger R et al.** 2016. Investigation of the GeneXpertCT/NG assay for use with male pharyngeal and rectal swabs. Int J STD AIDS. August.
20. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, and R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. J. Clin. Microbiol. 35:2628-2633.
21. **Harryman L et al.** 2012. Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of *Neisseria gonorrhoeae* from genital and extra-genital sites: a retrospective study. Sex Transm Infect. Feb 88(1):27-31.
22. **Holmes, K. K., G. W. Counts, and H. N. Beatz.** 1971. Disseminated Gonococcal infection. Ann. of Intern. Med. 74:979-993.
23. **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.
24. **Hook, E. W., III, and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal infections in the adult. p. 458. In K. Holmes et al. (eds.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, NY.
25. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh, and T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. J. Clin. Microbiol. 31:1209-1212.
26. **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.

27. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors, and M. Chernesky.** 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. *J. Clin. Microbiol.* **36**:3122-3126.
28. **Mahito M., Mallinson H.** 2012. Response to 'Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of *Neisseria gonorrhoeae* from genital and extra-genital sites: a retrospective study. *Sex Transm Infect.* Apr; **88**(3):211.
29. **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.
30. **McCurdy, Brenda W.** 1997. *Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory.* February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
31. **Moncada J et al.** 2009. Evaluation of self-collected glans and rectal swabs from men who have sex with men for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by use of nucleic acid amplification tests. *J Clin Microbiol.* Jun **47**(6): 1657-62.
32. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
33. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
34. **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).
35. **Ota KV et al.** 2009. Detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in pharyngeal and rectal specimens using the BD Probetec ET system, the Hologic Aptima Combo 2 assay and culture. *Sex Transm Infect.* Jun **85**(3):182-6.
36. **Papp JR et al.** 2007. The use and performance of oral-throat rinses to detect pharyngeal *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Nov **59**(3):259-264. Epub 2007 Jul 26.
37. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test. *J. Clin. Microbiol.* **35**:957-959.
38. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
39. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
40. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
41. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **123**:753-757.
42. **Schachter J et al.** 2008. Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of chlamydial and gonococcal infections of the oropharynx and rectum in men who have sex with men. *Sex Transm Dis.* Jul **35**(7):637-642.
43. **Sexton ME et al.** 2013. How reliable is self-testing for gonorrhea and chlamydia among men who have sex with men? *J Fam Pract.* Feb **62**(2):70-78.
44. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee.** 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. *J. Clin. Microbiol.* **36**:2666-2670.
45. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. *J. Clin. Microbiol.* **36**:2356-2358.
46. **Turner AN et al.** HIV, rectal chlamydia, and rectal gonorrhoeae in men who have sex with men attending a sexually transmitted disease clinic in a Midwestern US city. *Sex Transm Dis.* Jun **40**(6):433-438.
47. **Turra M et al.** 2015. Detection and Confirmation of *Neisseria gonorrhoeae* Infections in Genital and Extragenital Samples using Aptima Assays on the Panther™ Instrument. *Microbiol Pathol.* **1**(2): 018.
48. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. *J. Clin. Microbiol.* **34**:3072-3074.
49. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. *J. Clin. Microbiol.* **3**:74-80.
50. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. *Infect. Immun.* **57**:1040-1049.



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



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Zákaznická podpora: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

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

Více informací získáte na adrese www.hologic.com.

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

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

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

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

Na tento výrobek se může vztahovat jeden nebo více patentů Spojených Států, které jsou uvedeny na webové stránce www.hologic.com/patents.

© 2001–2019 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

502183CS Rev. 007
2019-05