

Aptima™ Trichomonas vaginalis Assay (systém Panther®)

Návod k použití
Pro diagnostické použití *in vitro*
Pouze pro export z USA.

Obecné informace	2
Určené použití	2
Shrnutí a vysvětlení testu	2
Principy postupu	2
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti	3
Varování a bezpečnostní opatření	3
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi	7
Odběr a skladování vzorků	7
Systém Panther	10
Reagensie a materiály, které jsou součástí dodávky	10
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně	11
Volitelné materiály	12
Postup testu na systému Panther	13
Poznámky k postupu	16
Interpretace testů – Výsledky kontrolních nebo patientských vzorků	18
Omezení	19
Očekávané hodnoty	21
Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty pro hypotetickou míru prevalence	21
Klinická účinnost v systému Panther	24
Klinická studie	24
Rozdělení RLU u kontrol testu Aptima Trichomonas vaginalis	30
Analytická účinnost systému Panther	31
Analytická senzitivita	31
Křížová reaktivita v přítomnosti mikroorganismů	31
Interference	32
Studie reprodukovatelnosti	33
Přenos	33
Stabilita vzorků	34
Literatura	35
Kontaktní informace a historie revizí	36

Obecné informace

Určené použití

Test Aptima™ *Trichomonas vaginalis* (TV) je test *in vitro* ke kvalitativní amplifikaci nukleových kyselin (NAAT) sloužící k detekci ribozomální RNA (rRNA) druhu *Trichomonas vaginalis* k diagnostice trichomoniázy na systému Panther® System.

Může být použit k testování následujících vzorků symptomatických i asymptomatických osob: endocervikální stěry odebrané lékařem, vaginální stěry odebrané lékařem a pacientkou, vzorky moči odebrané ženám a mužům a vzorky odebrané do roztoku PreservCyt™.

Shrnutí a vysvětlení testu

T. vaginalis (TV) je původce nejčastějšího léčitelného pohlavně přenosného onemocnění (STD) ve Spojených státech, ve kterých se vyskytne přibližně 7,4 milionu nových případů ročně (1, 2).

Infekce u žen způsobuje vaginitidu, uretritidu a cervicitidu. V genitourinárním traktu se mohou vyskytnout malé krvácivé léze a může zde docházet k výtoku. Mezi komplikace se řadí předčasný porod, nízká porodní hmotnost novorozenců, předčasný odtok plodové vody a infekce po potratu nebo po hysterektomii. V literatuře byla uvedena také souvislost dřívějších výskytů trichomoniázy s pánevní zánětlivou nemocí, tubární neplodností a karcinomem děložního hrdla. Symptomatické ženy s trichomoniázou obvykle uvádějí vaginální výtok, vulvovaginální bolestivost a/nebo podráždění. Běžná je také dysurie. Odhaduje se však, že 10 až 50 % infekcí *T. vaginalis* u žen probíhá asymptomaticky, a u mužů toto číslo může být i vyšší (3, 4 a 5).

Mezi hlášené příznaky infekce urogenitálního traktu způsobené trichomonádami u mužů patří výtok z penisu, bolest při močení a pohlavním styku a bolest v tříslech a varlatech (6). Prevalence infekce způsobené trichomonádami u mužů se pohybuje od 0,49 % v nízkorizikové asymptomatické populaci (7) do 6 % v populaci s vysokým rizikem infekce (8, 9).

Detekování *T. vaginalis* běžnými kultivačními postupy je technicky náročné a trvá až 7 dní. K úspěšné kultivaci tohoto prvoka je totiž žádoucí okamžitá inokulace do živné půdy, důsledné zajištění inkubačních podmínek a časté mikroskopování živné půdy. Senzitivita kultivace ve srovnání s molekulárními postupy se odhaduje na 38–82 % kvůli problémům s viditelností malého počtu jedinců a jejich pohyblivostí (10 a 11).

T. vaginalis může být stanovena také v mikroskopickém preparátu, kdy se mikroskopuje směs poševních sekretů a fyziologického roztoku na podložním sklíčku. Ve srovnání s kultivací však citlivost mikroskopického preparátu dosahuje pouze 35–80 % (11). Senzitivita stanovení z mikroskopického preparátu silně závisí na zkušenosti laborantů a rychlosti přepravy vzorku do laboratoře.

Principy postupu

Test Aptima TV zahrnuje technologie zachycení cíle, amplifikace zprostředkované transkripcí (transcription-mediated amplification, TMA) a testu hybridizační ochrany (hybridization protection assay, HPA).

Vzorky se odebírají a přenášejí do příslušných transportních zkumavek. Transportní roztok v těchto zkumavkách uvolňuje cílovou rRNA a chrání ji před degradací během skladování. Při provádění testu Aptima TV v laboratoři se cílová rRNA izoluje ze vzorků pomocí specifického záchytového oligomeru a magnetických mikročástic metodou zvanou záchyt cíle. Záchytový oligomer obsahuje sekvenci komplementární ke specifické oblasti cílové molekuly a řetězec deoxyadenosinových zbytků. Během hybridizačního kroku se sekvencně specifická oblast záchytového oligomeru váže na specifickou oblast cílové molekuly. Komplex záchytového oligomeru a cíle se poté vychytá z roztoku snížením teploty reakce na pokojovou teplotu. Díky tomuto snížení teploty může proběhnout hybridizace mezi deoxyadenosinovou oblastí záchytového oligomeru a polydeoxythymidinovými molekulami, které jsou kovalentně navázané na magnetické částice. Mikročástice, včetně zachycené cílové molekuly, která je na ně navázána, jsou pomocí magnetů přitaženy ke stranám reakční nádoby a supernatant se odsaje. Částice se promyjí, aby se odstranila zbývající matrix vzorku, která může obsahovat inhibitory amplifikace. 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. Při reakci Hologic TMA dochází k amplifikaci specifické oblasti malé ribozomální podjednotky z *T. vaginalis* prostřednictvím meziproductové DNA a RNA a vznikají molekuly amplikonů RNA. Detekce sekvencí amplifikačních produktů rRNA se provádí pomocí testu hybridizační ochrany (HPA) na bázi nukleových kyselin. Jednovláknová chemiluminiscenční sonda DNA, která je komplementární k oblasti cílového amplikonu, se označí molekulou akridinesteru. Označená sonda DNA se sloučí s amplikonem za vzniku stabilních hybridů RNA:DNA. Selektivní reagentie odlišuje hybridizované sondy od nehybridizovaných, což brání vytváření signálu z nehybridizovaných sond. Během detekčního kroku se světlo emitované z označených hybridů RNA:DNA měří jako fotonové signály v luminometru a jsou uváděny jako relativní světelné jednotky (RLU).

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (základní UDI-DI). Souhrn SSP k testu Aptima TV vyhledáte podle základního jedinečného identifikátoru prostředku (Basic Unique Device Identifier – BUDI): **54200455DIAGAPTRICHWY**.

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pro profesionální použití.
- C. Před provedením testu si pečlivě přečtěte celou příbalovou informaci a *Příručku k obsluze systému Panther / Panther Fusion*. Snižíte tak riziko výskytu neplatných výsledků.
- D. Tento test mohou používat pouze pracovníci s náležitým školením v použití testu Aptima TV a v manipulaci s potenciálně infekčními materiály. Pokud dojde k rozlítí, ihned proveďte dezinfekci pomocí vhodných postupů daného pracoviště.

- E. Další specifická varování, bezpečnostní opatření a postupy pro kontrolu kontaminace systému Panther / Panther Fusion® naleznete v dokumentu Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Příručka obsluhy systému Panther / Panther Fusion).

Související s laboratoří

- F. Používejte pouze dodané nebo určené 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: Dráždivá a žíravá látka.** Zabraňte styku reagensů Auto Detect 2 s kůží, očima a sliznicemi. Pokud tato kapalina přijde do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte je vodou. Pokud dojde k rozlití této kapaliny, naředte rozlitou kapalinu vodou předtím, než ji dosucha vytřete.
- I. Pracovní povrchy, pipety a jiné vybavení musí být pravidelně dekontaminováno pomocí 2,5% až 3,5% (0,35 M až 0,5 M) roztoku chlornanu sodného.
- J. Všechny materiály, které přišel do kontaktu se vzorky a reagensy, zlikvidujte v souladu s příslušnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy.
- K. Postupujte podle zásad správné praxe v molekulárních laboratořích včetně sledování prostředí. Navrhovaný protokol monitorování kontaminace laboratoří pro systém Panther naleznete v části *Poznámky k postupu*.

Související se vzorky

- L. Data použitelnosti uvedená na odběrových soupravách se vztahují na místo odběru a nikoli na testovací pracoviště. Vzorky odebrané kdykoli před datem použitelnosti odběrové soupravy uložené v souladu s příbalovou informací jsou platné pro testování i v případě, že uplyne datum použitelnosti na odběrové zkumavce.
- M. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření. Je třeba, aby vedoucí laboratoře stanovil správné postupy manipulace s jednorázovým materiálem a postupy jeho likvidace. Tento diagnostický postup smí provádět pouze personál adekvátně vyškolený v manipulaci s infekčními materiály.
- N. Při manipulaci se vzorkem zabraňte křížové kontaminaci. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace organismů. Zajistěte, aby se nádoby se vzorky od různých pacientů při manipulaci se vzorky v laboratoři vzájemně nedotýkaly. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si rukavice.
- O. Při likvidaci použitého materiálu jej nepřenášejte nad jinými nádobami.
- P. Za určitých podmínek může začít z uzávěru po propíchnutí transportní zkumavky Aptima vytékat tekutina. Další informace viz *Postup testu na systému Panther*.
- Q. 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.



- R. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, zajistěte při přepravě vzorků vhodné podmínky skladování. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- S. Pokud laboratoř obdrží transportní zkumavku na stěry bez tampónu, se dvěma tampóny, s čisticím tampónem nebo tampónem nedodaným společností Hologic, musí být vzorek odmítnut.

Související s testem

- T. Reagencie zavíčkujte a skladujte při uvedených teplotách. Při nesprávném skladování reagensů může být negativně ovlivněna účinnost testu. Další informace najdete v části *Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi a Postup testu na systému Panther*.
- U. Při manipulaci s kontrolami dbejte univerzálních bezpečnostních opatření.
- V. Zabraňte mikrobiální a ribonukleázové kontaminaci reagensů.
- W. Nepoužívejte soupravu nebo kontrolu poté, co uplynula její doba použitelnosti.
- X. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagensie testu ze souprav s různými čísly hlavní šarže. Kontroly a testovací kapaliny lze zaměňovat.
- Y. Pokud nebude výslovně uvedeno jinak, nekombinujte žádné reagensie ani kapaliny testu. Nedolévejte reagensie ani kapaliny. Systém Panther ověřuje hladiny reagensů.
- Z. Některé reagensie v této soupravě jsou označeny rizikovými a bezpečnostními symboly.

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.hologic.com/sds. Další informace o symbolech naleznete v legendě symbolů na www.hologic.com/package-inserts.

Informace o nebezpečí pro EU	
<p>Amplification Reagent <i>HEPES 25–30%</i></p> <p>–</p>	<p>–</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadů.</p>
<p>Enzyme Reagent <i>TRITON X-100 0–5 %</i></p> <p>–</p>	<p>–</p> <p>H402 – Škodlivý pro vodní organismy. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadů.</p>

-	<p>Probe Reagent LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35–40 % SUCCINIC ACID 10–15 %</p> <p>-</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadů.</p>
-	<p>Enzyme Reconstitution Solution GLYCEROL 20–25 % TRITON X-100 5–10 %</p> <p>-</p> <p>H402 – Škodlivý pro vodní organismy. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.</p>
 	<p>Selection Reagent BORIC ACID 0–10 % TRITON X-100 0–10 % HYDROXID SODNÝ 0–10 %</p> <p>Nebezpečí H315 – Dráždí kůži. H360FD – Může poškodit reprodukční schopnost. Může poškodit plod v těle matky. P264 – Po manipulaci důkladně omyjte tvář, ruce a exponované části kůže. P280 – Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít. P321 – Odborné ošetření (viz dodatečné pokyny týkající se první pomoci uvedené na bezpečnostním listu). P201 – Před použitím si obzarejte speciální instrukce. P202 – Nepoužívejte, dokud jste si nepřčetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim. P405 – Skladujte uzamčené. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadů.</p>
-	<p>Target Capture Reagent HEPES 5–10 % EDTA 1–5 % LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE, 1–5 %</p> <p>-</p> <p>H401 – Toxický pro vodní organismy. H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadů.</p>

Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi

A. V následující tabulce jsou uvedeny skladovací podmínky a stabilita reagensů a kontrol:

Reagencie	Skladování v neotevřeném stavu	Otevřená souprava (po rekonstituci)	
		Skladování	Stabilita
Amplifikační reagencie	2 °C až 8 °C		
Enzymová reagencie	2 °C až 8 °C		
Reagencie sondy	2 °C až 8 °C		
Reagencie B pro záchyt cíle	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro amplifikaci	2 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	60 dní
Rekonstituční roztok pro enzymy	2 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	60 dní
Rekonstituční roztok pro sondy	2 °C až 30 °C	2 °C až 8 °C	60 dní
Selekční reagencie	2 °C až 30 °C	2 °C až 30 °C	60 dní
Reagencie pro záchyt cíle	15 °C až 30 °C	15 °C až 30 °C	60 dní
Pozitivní kontrola	2 °C až 8 °C		Jednorázová lahvička
Negativní kontrola	2 °C až 8 °C		Jednorázová lahvička

- B. Po rekonstituci jsou amplifikační reagencie, enzymová reagencie a reagencie sondy stabilní po dobu 60 dnů, pokud jsou skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C.
- C. Pracovní reagencie záchytu cíle (wTCR) je stabilní po dobu 60 dnů, pokud je uchovávána při teplotě 15 °C až 30 °C. Neukládejte do lednice.
- D. Pokud je selekční reagencie skladována v chladu, nechte ji před vložením do systému Panther ohřát na pokojovou teplotu.
- E. Jakékoli nepoužité rekonstituované reagencie a wTCR zlikvidujte po 60 dnech nebo po uplynutí data expirace hlavní šarže, podle toho, co nastane dříve.
- F. Kontroly jsou stabilní do data vyznačeného na lahvičkách.
- G. Reagencie uložené v systému Panther mají stabilitu v přístroji 72 hodin.
- H. Při manipulaci s reagensy a jejich skladování zabraňte křížové kontaminaci. Před každým uložením opatřete všechny rekonstituované reagencie novým víčkem.
- I. Reagencie sondy i rekonstituovaná reagencie sondy jsou fotosenzitivní. Reagencie skladujte tak, aby byly chráněny před světlem.
- J. Reagencie nezmrazujte.

Odběr a skladování vzorků

Poznámka: Se všemi vzorky je nutné zacházet jako s potenciálně infekčními. Postupujte podle univerzálních bezpečnostních opatření.

Poznámka: Dávejte pozor, aby při manipulaci se vzorky nedošlo ke křížové kontaminaci. Při likvidaci například nepřenášejte použitý materiál nad otevřenými zkumavkami.

Test Aptima TV slouží k detekci přítomnosti *T. vaginalis* ve vzorcích endocervikálních stěrů odebraných lékařem, ve vzorcích vaginálních stěrů odebraných lékařem a pacientkou, ve vzorcích moči žen a mužů a ve vzorcích Pap v roztoku PreservCyt. Účinnost u jiných vzorků než těch, které byly odebrány následujícími soupravami pro odběr vzorků, nebyla hodnocena:

- Souprava pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest
- Souprava Aptima pro odběr vzorků ženské a mužské moči
- Souprava pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů Aptima Unisex
- Souprava pro přenos vzorků Aptima (pro použití s gynekologickými vzorky odebranými v roztoku PreservCyt)

A. Odběr vzorků

1. Konkrétní pokyny pro odběr naleznete v příbalové informaci příslušné soupravy pro odběr vzorků.

B. Přeprava a skladování vzorků před testováním

1. Vzorky urogenitálních stěrů
 - a. Odebraný stěr až do otestování přepravujte a uchovávejte v transportní zkumavce na stěry při teplotě 2 °C až 30 °C.
 - b. Vzorky testujte do 60 dní po odběru. Je-li potřeba delšího uchování, můžete transportní zkumavku se vzorkem až na 24 měsíců zamrazit při teplotě ≤ -20 °C.
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 do 24 hodin po odběru přeneste do transportní zkumavky pro vzorky moči Aptima.
 - b. Zpracované vzorky moči uchovávejte při teplotě 2 °C až 30 °C a otestujte je do 30 dní od přenosu. Je-li potřeba delšího uchování, můžete zpracovaný vzorek moči až 24 měsíců po přenosu skladovat při teplotě ≤ -20 °C.
3. Vzorky odebrané do roztoku PreservCyt
 - a. Vzorky odebrané do roztoku PreservCyt přepravujte a uchovávejte nanejvýš 30 dní při teplotě 2 °C až 30 °C.
 - b. Vzorky odebrané do roztoku PreservCyt musejí být přeneseny do transportní zkumavky na vzorky Aptima™ podle pokynů v příbalové informaci k soupravě pro přenos vzorků Aptima a k přepravnímu roztoku Aptima.
 - c. Po přenosu do transportní zkumavky na vzorky Aptima můžete vzorky přepravovat a skladovat dalších 14 dní při teplotě 15 °C až 30 °C nebo 30 dní při teplotě 2 °C až 8 °C.
 - d. Je-li potřeba delšího uchování, vzorky v roztoku PreservCyt a vzorky PreservCyt v roztoku Pap ředěné v transferové zkumavce na vzorek můžete uchovávat až 24 měsíců při teplotě ≤ -20 °C.

C. Uchovávání 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 otestované vzorky zmrazit nebo odeslat, odstraňte z transportní zkumavky na vzorek propichovací uzávěr a nasadte na ni nový nepropichovací uzávěr. Je-li nutné vzorky odeslat k testování na jiné pracoviště, musejí se dodržet doporučené teploty. Před otevřením vzorků musí být transportní zkumavky centrifugovány po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle 420 (RCF), aby se veškerá kapalina dostala na dno zkumavky.
Zabraňte rozstříkávání a křížové kontaminaci.

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

Systém Panther

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

Reagentie a materiály, které jsou součástí dodávky

Souprava na testy Aptima Trichomonas vaginalis (systém Panther)

250 testů (2 krabice a 1 souprava kontrol) (kat. č. 303163)

100 testů (2 krabice a 1 souprava kontrol) (kat. č. 303209)

**Chladicí box s testem Aptima Trichomonas vaginalis (krabice 1 ze 2)
(po obdržení skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)**

Symbol	Součást	Množství	
		Souprava na 250 testů	Souprava na 100 testů
A	Amplifikační reagentie <i>Primery a nukleotidy vysušené v pufrovaném roztoku obsahujícím < 5 % objemového činidla.</i>	1 lahvička	1 lahvička
E	Enzymová reagentie <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v roztoku pufrovaném HEPES obsahujícím < 10 % objemového činidla.</i>	1 lahvička	1 lahvička
P	Reagentie sondy <i>Chemiluminiscenční sondy DNA vysušené v sukcinátem pufrovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 lahvička	1 lahvička
TCR-B	Reagentie B pro záchyt cíle <i>Pufrovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 × 0,56 ml	1 × 0,30 ml

**Box s testem Aptima Trichomonas vaginalis určený pro pokojovou teplotu
(krabice 2 ze 2) (po obdržení skladujte při pokojové teplotě 15 °C až 30 °C)**

Symbol	Součást	Množství	
		Souprava na 250 testů	Souprava na 100 testů
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 × 27,7 ml	1 × 11,9 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy <i>Pufrovaný roztok HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 × 11,1 ml	1 × 6,3 ml
PR	Rekonstituční roztok pro sondy <i>Sukcinátem pufrovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 × 35,4 ml	1 × 15,2 ml

Box s testem Aptima Trichomonas vaginalis určený pro pokojovou teplotu (krabice 2 ze 2) (po obdržení skladujte při pokojové teplotě 15 °C až 30 °C)

S	Selekční reagentie <i>600 mmol boritanem pufovaného roztoku obsahujícího surfaktant.</i>	1 × 108 ml	1 × 43,0 ml
TCR	Reagentie pro záchyt cíle <i>Pufovaný roztok obsahující záchytové oligomery a magnetické částice.</i>	1 × 54,0 ml	1 × 26,0 ml
	Rekonstituční objímky	3	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list	1 list

Souprava kontrol testu Aptima Trichomonas vaginalis (po obdržení skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství
NC	Negativní kontrola <i>Neinfekční necílová nukleová kyselina v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	5 × 1,7 ml
PC	Pozitivní kontrola <i>Neinfekční jedinci Trichomonas vaginalis v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	5 × 1,7 ml

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

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

	Kat. č.
System Panther	303095
System Panther Fusion	PRD-04172
System Panther, nepřetržité odvádění tekutin a odpadů (Panther Plus)	PRD-06067
Souprava kapalin pro test Aptima Assay Fluids Kit <i>(promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny a olejová reagentie Aptima)</i>	303014 (1 000 testů)
Autodetekční souprava Aptima Auto Detect Kit	303013 (1 000 testů)
Jednotky s více zkumavkami (MTU)	104772-02
Souprava pytle na odpad Panther	902731
Kryt odpadního koše Panther	504405
nebo souprava pro spuštění Panther <i>(obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních nádob, kapaliny pro test a autodetekční reagentie)</i>	303096 (5 000 testů)

Špičky, 1 000 µl s filtrem, vodivé, detekující kapaliny a jednorázové. <i>Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u svého zástupce.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Souprava pro transfer vzorků Aptima Specimen Transfer Kit <i>pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt</i>	301154C
Souprava pro přenos vzorků Aptima Specimen Transfer Kit – potiskovatelná <i>pro použití se vzorky v roztoku PreservCyt</i>	PRD-05110
Souprava pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Souprava pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů Aptima Unisex	301041
Souprava pro odběr vzorků mužské a ženské moči Aptima	301040
Transportní zkumavky pro vzorky mužské a ženské moči Aptima	105575
Bělidlo, 5% až 8,25% (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného	–
Jednorázové rukavice	–
Propichovací uzávěry Aptima	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní uzávěry pro soupravy s 250 testy <i>Rekonstituční roztoky pro amplifikační reagensii a reagensii sondy</i> CL0041 (100 uzávěrů) <i>Rekonstituční roztok pro enzymovou reagensii TCR a selekční reagensie</i> 501616 (100 uzávěrů) CL0040 (100 uzávěrů)	–
Náhradní uzávěry pro soupravy na 100 testů <i>Rekonstituční roztoky pro amplifikační reagensii, enzymovou reagensii a reagensii sondy</i> CL0041 (100 uzávěrů) <i>TCR a selekční reagensie</i> 501604 (100 uzávěrů)	–

Volitelné materiály

	Kat. č.
Sada kontrol testu Aptima Trichomonas vaginalis	302807
Přídavek Hologic do bělidla pro čištění <i>pro rutinní čištění povrchů a zařízení</i>	302101
Třepačka	–

Postup testu na systému Panther

Poznámka: Další informace o provedení testovacího postupu na systému Panther naleznete v Příručce obsluhy systému Panther / Panther Fusion.

A. Příprava pracovního prostoru

1. 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. Roztok chlornanu sodného nechte působit na kontaktní povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte deionizovanou 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 Panther je třeba provést rekonstituci reagentií.

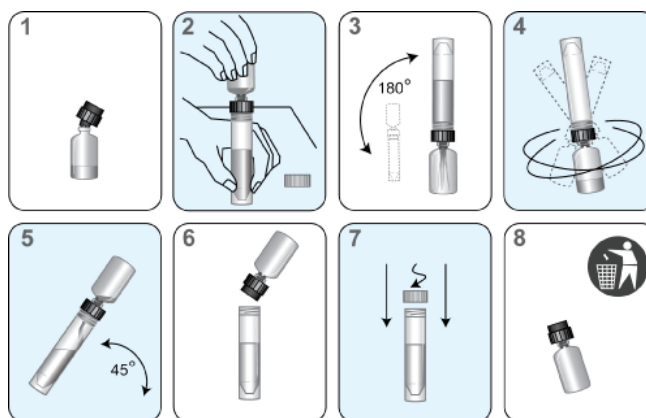
1. K rekonstituci amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagentií s rekonstitučním roztokem. V případě, že rekonstituované roztoky byly uloženy v chladničce, nechte je před použitím dosáhnout pokojové teploty.
 - a. Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou 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 reagentií.
 - c. Otevřete skleněnou lahvičku s lyofilizovanou reagentií a pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky do otvoru skleněné lahvičky (Obrázek 1, 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 s rekonstitučním roztokem (Obrázek 1, krok 2).
 - f. Pomalu překlopte spojené lahvičky. Nechte roztok přetéct z lahvičky do skleněné lahvičky s rekonstitučním roztokem (Obrázek 1, krok 3).
 - g. Roztok v lahvičce promíchejte opatrným kroužením. Při promíchávání lahvičky zabraňte tvorbě pěny (Obrázek 1, 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 1, krok 5). Nechte veškerou tekutinu vtéct zpět do lahvičky s rekonstitučním roztokem.
 - i. Odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 1, krok 6).
 - j. Znovu uzavřete plastovou lahvičku uzávěrem. Na štítek zapište iniciály laboranta a datum rekonstituce (Obrázek 1, krok 7).

- k. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 1, krok 8).

Volitelně: Další míchání amplifikačních a enzymových reagensů a reagensů sondy je možné umístěním znovu uzavřených plastových lahviček na třepačku nastavenou na mírnou rychlost a naklopení po dobu minimálně 5 minut. Ujistěte se, že jsou reagensie důkladně promíchány.

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

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



Obrázek 1. Postup rekonstituce reagensů

2. Příprava pracovní reagensie 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 její obsah do lahvičky TCR. Malé množství roztoku zůstane v lahvičce 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 reagensii, 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 reagensie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagensii 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 až 30 °C).

Volitelně: *Rekonstituované plastové lahvičky amplifikačních a enzymových reagensů a reagensů sondy s uzávěrem lze umístit na třepačku nastavenou na mírnou rychlost a naklopení dokud reagensie nedosáhnou pokojové teploty a důkladně se nepromíchají.*

2. Pokud rekonstituovaná reagensie sondy obsahuje sraženinu, která se při pokojové teplotě nerozpustí, zahřívajte uzavřenou lahvičku při teplotě, která nepřekročí 62 °C, po dobu 1 až 2 minut. Po tomto zahřívacím kroku může být reagensie sondy použita i v případě, že v ní zůstane zbytková sraženina. Reagensii sondy promíchejte převrácením, přičemž dbejte na to, aby se před vložením do systému nevytvořila pěna.
3. Před vložením reagensů do systému je všechny pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagensii zabraňte tvorbě pěny.
4. Láhve s reagensii nedoplňujte. Doplněné lahvičky systém Panther rozpozná a zamítne je.

D. Manipulace se vzorkem

1. Před zpracováním nechte kontroly a vzorky dosáhnout pokojové teploty.
2. Vzorky nemíchejte ve vortexu.
3. Pohledem zkontrolujte, zda všechny zkumavky na vzorky splňují jedno z následujících kritérií:
 - a. Přítomnost jediného modrého odběrového tampónu Aptima v unisexové transportní zkumavce na stěry.
 - b. Přítomnost jediného růžového odběrového tampónu Aptima v transportní zkumavce pro odběr více typů stěrů.
 - c. Konečný objem moči mezi černými plnicími linkami transportní zkumavky pro vzorek moči.
 - d. Nepřítomnost tampónu v transportní zkumavce Aptima pro vzorky Pap stěru v roztoku PreservCyt.
4. Před vložením zkumavek na vzorky do stojanu je zkontrolujte.
 - a. Pokud zkumavka se vzorkem obsahuje bubliny v prostoru mezi roztokem a uzávěrem, odstředíte zkumavku 5 minut relativní odstředivou silou 420, abyste bubliny odstranili.
 - b. Pokud má zkumavka se vzorkem menší objem, než je typicky pozorován při dodržení pokynů k odběru, odstředíte zkumavku 5 minut relativní odstředivou silou 420, 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 4a–4c, může z uzávěru zkumavky se vzorkem vytéct kapalina.*

Poznámka: Z každé zkumavky na vzorky lze otestovat až 4 samostatné alikvoty. Pokud se pokusíte pipetovat více než 4 alikvoty ze zkumavky na vzorky, může při zpracování dojít k chybě.

E. Příprava systému

1. Nastavte systém podle pokynů uvedených v *uživatelské příručce systému Panther / Panther Fusion* a v části *Poznámky k postupu*.

Poznámka: Použijte stojany na reagentie vhodné velikosti a TCR adaptéry.

2. Vložte vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. K zajištění správného průběhu práce s APTIMA Assay Software se systémem Panther je nutný jeden pár kontrolních vzorků. Zkumavky s kontrolou pozitivní na *Trichomonas* a s kontrolou negativní na *Trichomonas* můžete vložit do libovolné pozice stojanu nebo libovolné řady vzorků v systému Panther. Pipetování vzorku pacienta začne, jestliže je splněna jedna z následujících dvou podmínek:
 - a. Systém momentálně zpracovává dvojici kontrol.
 - b. V systému jsou registrovány platné výsledky těchto kontrol.
2. Jakmile byly kontrolní zkumavky napipetovány a jsou zpracovávány pro konkrétní soupravu reagentií, mohou být vzorky pacientů použity s přiřazenou soupravou do 24 hodin **kromě následujících výjimek:**
 - a. Výsledky kontrol jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagentií testu je ze systému vyjmuta.
 - 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 při zpracování dojít k chybě.

B. Teplota

Pokojeová teplota je definována jako 15 až 30 °C.

C. Prášek z rukavic

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

D. Protokol monitorování kontaminace laboratoří pro systém Panther

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

K monitorování laboratorní kontaminace je možné provést následující postup pomocí soupravy pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů Aptima unisex:

1. Označte transportní zkumavky pro přenos 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 transport vzorků (STM) Aptima 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 přenos stěrů znovu pevně uzavřete.
6. Opakujte kroky 2 až 5 pro každou oblast, kde má být proveden stěr.
7. Otestujte vzorky testem Aptima TV v systému Panther.
8. Pokud některé výsledky budou pozitivní, proveďte další šetření.

Pokud jsou výsledky pozitivní, nahlédněte do části *Interpretace testů – Výsledky kontrolních nebo patientských vzorků*. Další informace k monitorování kontaminace specifické pro systém Panther vám na požádání poskytne technická podpora společnosti Hologic.

Interpretace testů – Výsledky kontrolních nebo patientských vzorků

A. Interpretace testu

Analytický software Aptima TV v systému Panther výsledky testu interpretuje automaticky. Výsledek testu může být negativní, pozitivní, nebo neplatný, a to na základě celkového počtu RLU v detekčním kroku (viz níže). Výsledek testu může být neplatný, pokud počet RLU nespadá do normálního očekávaného rozmezí. V případě neplatného testu vzorek otestujte znovu. Hlášení se provádí u prvního platného výsledku.

Interpretace testu	Celkový počet RLU (x 1 000)
Negativní	0* až < 100
Pozitivní	100 až < 2 400
Neplatné	0* nebo ≥ 2 400

*Pokud se počet RLU naměřený v systému Panther pohybuje v rozmezí od 0 do 999, v hlášení bude ve sloupci „Total RLU (000s)“ (celkový počet RLU v tisících) uvedena hodnota „0“. Hodnoty RLU nižší než 690 se považují za neplatné. Hodnoty RLU od 690 do 999 se považují za platné.

B. Výsledky kontroly kvality a přijatelnost

Negativní kontrola pro trichomonády, která je označena jako „NC CONTROL – TRICH“, a pozitivní kontrola pro trichomonády, která je označena jako „PC CONTROL + TRICH“, slouží jako kontroly pro kroky záchytu cíle, amplifikaci a detekce testu. V souladu s pokyny a požadavky státních a unijních předpisů nebo akreditačních organizací mohou být zahrnuty další kontroly lýzy buněk a stabilizace RNA. Pozitivní kontrola pro trichomonády, která je označena „PC CONTROL + TRICH“, obsahuje neinfekční rRNA *T. vaginalis*.

Tyto kontroly musí generovat následující výsledky testu:

Kontrola	Celkový počet RLU (x 1 000)	Přítomnost <i>T. vaginalis</i>
NC Control – TRICH	0* a < 20	Negativní
PC Control + TRICH	≥ 500 a < 2 400	Pozitivní

*Pokud se počet RLU naměřený v systému Panther pohybuje v rozmezí od 0 do 999, v hlášení bude ve sloupci „Total RLU (000s)“ (celkový počet RLU v tisících) uvedena hodnota „0“. Hodnoty RLU nižší než 690 se považují za neplatné. Hodnoty RLU od 690 do 999 se považují za platné.

Každá laboratoř by měla zavést vhodné kontrolní postupy pro splnění místních požadavků. Chcete-li pomoc s kontrolami mimo rozmezí, obraťte se na technickou podporu společnosti Hologic.

Omezení

- A. Test mohou používat pouze osoby vyškolené v provedení příslušných postupů. Nedodržení pokynů uvedených v této příbalové informaci povede k chybným výsledkům.
- B. Účinky používání tampónů, výplachů vaginy a proměnné odebrání vzorků nebyly hodnoceny z hlediska jejich vlivu na detekci *Trichomonas vaginalis*.
- C. U mukoidních vzorků pozitivních na TV může být počet RLU nižší. Před odběrem endocervikálních vzorků přebytečný hlen odeberte.
- D. Odběr vzorků moči, vaginálních stěrů a vzorků Pap v roztoku PreservCyt nemá sloužit jako náhrada cervikálního vyšetření a endocervikálních vzorků při diagnostice urogenitálních infekcí u žen. Pacienti/pacientky mohou mít zánět děložního hrdla, uretritidu, infekce močových cest a vaginální infekce z jiných příčin nebo souběžné infekce s jinými infekčními činiteli.
- E. Tento test byl zkoušen výhradně pomocí uvedených typů vzorků. Jeho účinnosti u jiných typů vzorků hodnocena nebyla.
- F. Spolehlivé výsledky jsou závislé na adekvátním odběru vzorků. Vzhledem k tomu, že transportní systém použitý pro tento test neumožňuje mikroskopické posouzení přiměřenosti vzorku, je nezbytné proškolit klinické lékaře o vhodných technikách odběru vzorků. Pokyny naleznete v části *Odběr a skladování vzorků*. Podrobnosti naleznete v příslušném návodu k použití.
- G. Terapeutické selhání nebo úspěch nelze v rámci testu Aptima TV určit, jelikož nukleová kyselina může přetrvávat i po vhodné antimikrobiální terapii.
- H. Výsledky testu Aptima TV je třeba interpretovat ve spojení s dalšími klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- I. Negativní výsledek nevylučuje možnou infekci, protože výsledky závisí na adekvátním odběru vzorků. Výsledky testu mohou být ovlivněny nesprávným odběrem vzorku, technickou chybou, záměnou vzorku nebo cílovými hladinami pod detekčním limitem testu.
- J. Negativní výsledek nevylučuje možnost infekce, jelikož přítomnost *Trichomonas tenax* nebo *Pentatrichomonas hominis* ve vzorku může snížit detekovatelnost rRNA druhu *T. vaginalis*. Podrobnosti jsou popsány v části *Křížová reaktivita v přítomnosti mikroorganismů*.
- K. Test Aptima TV poskytuje kvalitativní výsledky. Proto není možné provést korelaci mezi velikostí signálu pozitivního testování a počtem organismů ve vzorku.
- L. Účinnost vzorků moči, vaginálních stěrů a vzorků Pap v roztoku PreservCyt nebyla hodnocena u dospívajících mladších 14 let.
- M. Účinnost testu Aptima TV u gynekologických vzorků odebraných do lahvičky s roztokem PreservCyt zpracovaných v systémech ThinPrep™ nebyla hodnocena.
- N. Účinnost systému Panther nebyla hodnocena v nadmořských výškách nad 2000 m (6 561 stop).

- O. Pokud je počet jedinců *T. vaginalis* ve vzorku malý, kvůli nerovnoměrnému rozmístění rRNA *T. vaginalis* nemusí být v odebraném materiálu detekována. Pokud negativní výsledky vzorku neodpovídají klinickému obrazu, může být nutné odebrat nový vzorek.
- P. Zákazníci musí nezávisle validovat proces přenosu LIS.

Očekávané hodnoty

Odhadovaná pozitivita druhu *T. vaginalis* u různých populací pacientů závisí na senzitivitě testu při detekci infekce a rizikových faktorech, jako je věk, způsob života a výskyt příznaků. Souhrn pozitivity *T. vaginalis* stanovené testem Aptima TV na systému Panther je uveden v Tabulka 1 a Tabulka 2 pro dvě multicentrické klinické studie podle klinických pracovišť a celkově.

Tabulka 1: Pozitivita druhu *T. vaginalis* stanovená testem Aptima *Trichomonas vaginalis* v závislosti na typu vzorku a místě odběru

Typ vzorku	%									
	(počet pozitivních / počet testovaných)									
	Všechna místa	Pracoviště 1	Pracoviště 2	Pracoviště 3	Pracoviště 4	Pracoviště 5	Pracoviště 6	Pracoviště 7	Pracoviště 8	Pracoviště 9
FU	9,8 (64/650)	15,1 (8/53)	3,6 (2/55)	15,4 (2/13)	18,6 (8/43)	0,7 (1/136)	13,2 (10/76)	7,6 (11/144)	13,4 (11/82)	22,9 (11/48)
CVS	11,8 (80/678)	17,0 (9/53)	7,7 (4/52)	16,7 (2/12)	19,5 (8/41)	0,7 (1/145)	16,0 (12/75)	12,0 (21/175)	15,0 (12/80)	24,4 (11/45)
ES	11,2 (80/713)	20,4 (11/54)	8,9 (5/56)	12,5 (2/16)	17,1 (7/41)	0,6 (1/162)	20,2 (18/89)	9,1 (15/164)	13,3 (11/83)	20,8 (10/48)
PCyt	11,0 (81/739)	18,3 (11/60)	7,9 (5/63)	17,6 (3/17)	18,6 (8/43)	0,6 (1/167)	19,8 (17/86)	9,5 (16/169)	10,5 (9/86)	22,9 (11/48)

FU = ženská moč; CVS = lékařem odebraný vaginální stěr; ES = endocervikální stěr; PCyt = vzorek Pap v roztoku PreservCyt.

Tabulka 2: Pozitivita *T. vaginalis* podle výsledků testu Aptima *Trichomonas vaginalis* na systému Panther ve vzorcích vaginálního stěru, moči žen a moči mužů odebraných pacientem podle klinického pracoviště

Pracoviště	Pozitivita % (počet pozitivních / počet testovaných s platnými výsledky)		
	PVS	FU	MU
1	0 (0/16)	0 (0/16)	0 (0/180)
2	11,1 (36/325)	10,4 (38/364)	4,4 (16/364)
3	8,5 (6/71)	9,5 (7/74)	1,7 (1/60)
4	NC (0/0)	NC (0/0)	0 (0/13)
5	8,8 (15/170)	8,8 (15/171)	2,9 (12/407)
6	5,8 (24/416)	5,8 (24/413)	0,7 (2/304)
7	6,1 (11/179)	5,3 (10/187)	1,3 (3/225)
8	0 (0/38)	0 (0/39)	0 (0/32)
9	10,8 (32/297)	9,8 (25/255)	2,4 (5/210)
10	20,2 (37/183)	19,8 (36/182)	6,7 (6/89)
11	6,7 (6/90)	3,7 (3/81)	0 (0/51)
Vše	9,4 (167/1 785)	8,9 (158/1 782)	2,3 (45/1 935)

FU = ženská moč; MU = mužská moč; NC = nelze vypočítat; PVS = vaginální stěr odebraný pacientkou.

Pozitivní a negativní prediktivní hodnoty pro hypotetickou míru prevalence

Tabulka 3 a Tabulka 4 obsahuje odhadovanou pozitivní prediktivní hodnotu (PPV) a negativní prediktivní hodnotu (NPV) testu Aptima TV při různých hypotetických hodnotách prevalence u jednotlivých typů vzorku pro dvě multicentrické klinické studie. Tyto výpočty vycházejí z celkové odhadované senzitivity a specifity u jednotlivých typů vzorku (viz Tabulka 5 a Tabulka 6.).

Tabulka 3: Hypotetická PPV a NPV testu Aptima Trichomonas vaginalis v závislosti na typu vzorku

Typ vzorku	Prevalence (%)	PPV (%)	NPV (%)
FU	1	52,2	99,9
	2	68,8	99,9
	5	85,0	99,7
	10	92,3	99,3
	15	95,0	98,9
	20	96,4	98,4
	25	97,3	97,9
CVS	1	35,4	100
	2	52,6	100
	5	74,1	100
	10	85,8	100
	15	90,6	100
	20	93,1	100
	25	94,8	100
ES	1	34,8	100
	2	51,8	100
	5	73,5	100
	10	85,4	100
	15	90,3	100
	20	93,0	100
	25	94,6	100
PCyt	1	52,4	100
	2	69,0	100
	5	85,2	100
	10	92,4	100
	15	95,1	100
	20	96,5	100
	25	97,3	100

PPV = pozitivní prediktivní hodnota; NPV = negativní prediktivní hodnota; FU = ženská moč; CVS = lékařem odebraný vaginální stěr; ES = endocervikální stěr; PCyt = vzorek Pap v roztoku PreservCyt.

PPV a NPV byly odvozeny pro různé hypotetické míry prevalence na základě senzitivity a specifity odhadovaných během studie klinické účinnosti.

Tabulka 4: Hypotetická PPV a NPV testu Aptima *Trichomonas vaginalis* v závislosti na typu vzorku

Typ vzorku	Prevalence (%)	PPV (%)	NPV (%)
PVS	1	64,3	100
	2	78,4	100
	5	90,4	99,9
	10	95,2	99,9
	15	96,9	99,8
	20	97,8	99,7
	25	98,3	99,6
	FU	1	100
2		100	100
5		100	100
10		100	100
15		100	100
20		100	100
25		100	100
MU		1	86,4
	2	92,8	100
	5	97,1	100
	10	98,6	100
	15	99,1	100
	20	99,4	100
	25	99,5	100

PPV = pozitivní prediktivní hodnota; **NPV** = negativní prediktivní hodnota; **PVS** = vaginální stěr odebraný pacientkou; **FU** = ženská moč; **MU** = mužská moč.

PPV a NPV byly odvozeny pro různé hypotetické míry prevalence na základě senzitivity a specificity odhadovaných během studie klinické účinnosti.

Klinická účinnost v systému Panther

Klinická studie

Byly provedeny dvě klinické studie. Klinická účinnost testu Aptima TV byla hodnocena u vzorků vaginálního stěru odebraných lékařem, endocervikálního stěru, ženské moči a u vzorků Pap v roztoku PreservCyt v klinické studii 1 a u vzorků vaginálního stěru odebraných pacientkou a ženské a mužské moči v klinické studii 2.

Klinická studie 1. Klinická studie stěrů z pochvy odebraných lékařem, endocervikálních stěrů a vzorků Pap v roztoku PreservCyt

Klinická účinnost testu Aptima TV v systému Panther byla hodnocena pomocí zbytkových vzorků, které byly se souhlasem odebrány subjektům předchozí prospektivní multicentrické klinické studie testu Aptima TV v systému Tigris™ DTS™. Z 9 amerických klinik včetně porodnických a gynekologických klinik a středisek plánování rodičovství a pohlavně přenosných onemocnění byly zařazeny symptomatické a asymptomatické ženy. U každého subjektu byl odebrán jeden vzorek prvního proudu moči, 3 vaginální stěry, 1 endocervikální stěr a 1 vzorek Pap v roztoku PreservCyt. Všechny vzorky s výjimkou vzorků moči byly odebrány lékařem.

Vzorky Pap v roztoku PreservCyt byly odebrány metličkou, nebo špachtlí a cytologickým kartáčkem. Dva vaginální stěry byly testovány pomocí komerčně dostupného kultivačního systému a mikroskopického preparátu, aby se ověřila případná přítomnost infekce. Zbývající vzorky byly podle pokynů v příbalové informaci k soupravě na odběr vzorků Aptima připraveny na zkoušení pomocí testu Aptima TV.

Zkoušení systému Panther s testem Aptima TV probíhalo na 3 pracovištích (ve 2 externích laboratořích a ve společnosti Hologic) podle pokynů v příbalové informaci.

Charakteristiky účinnosti testu Aptima TV byly odhadnuty porovnáním výsledků s algoritmem infikovanosti pacientek. V algoritmu byly pacientky označeny jako infikované nebo neinfikované druhem *T. vaginalis* na základě výsledků vaginálních stěrů, které byly testovány kultivací nebo mikroskopováním na podložním sklíčku. Za infikované byly považovány pacientky s alespoň jedním pozitivním výsledkem referenčních testů. Aby pacientka byla považována za neinfikovanou, musely být oba referenční testy negativní.

Testem Aptima TV v systému Panther bylo vyšetřeno celkem 651 vzorků moči, 689 vaginálních stěrů, 737 endocervikálních stěrů a 740 vzorků Pap v roztoku PreservCyt. Vzorky, jejichž prvotní výsledek byl neplatný, byly testovány znovu. Jeden (1) vzorek moči, 11 vaginálních stěrů, 24 endocervikálních stěrů a 1 vzorek Pap v roztoku PreservCyt mělo neplatný výsledek kvůli hardwarové nebo softwarové chybě.

Ve srovnání s infikovaností pacientek stanovenou pomocí vaginálních stěrů byla senzitivita testu Aptima TV v systému Panther při použití vzorků moči mírně nižší než u ostatních typů vzorku. Ačkoli tento výsledek není překvapující vzhledem k tomu, že vaginální stěry jsou preferovaným typem vzorku při zjišťování trichomoniázy u žen (12), určitá omezení přinášela také koncepce studie. Jak již bylo uvedeno, klinická účinnosti testu Aptima TV v systému Panther byla hodnocena pomocí zbytkových vzorků, které byly na základě souhlasu odebrány subjektům předchozí prospektivní multicentrické klinické studie testu Aptima TV v systému Tigris DTS, což je automatický systém, který je předchůdcem systému Panther. Vzorky byly před testováním v systému Panther dlouhodobě zmrazené (až 18 měsíců při teplotě -70 °C) a značná část vzorků musela být vyřazena z opakovaného testování, především kvůli absenci souhlasu pacientek s dodatečným testováním po prvotní studii se systémem Tigris DTS.

K opakovanému testování během studie se systémem Panther bylo dostupných pouze 15 pozitivních vzorků moči asymptomatických pacientek. Z tohoto důvodu se stalo, že jeden ze vzorků, který v prvotní studii se systémem Tigris DTS vyšel jako pozitivní, ale po dlouhodobém skladování vycházel negativní, ve studii se systémem Panther významně ovlivnil výslednou senzitivitu testu u vzorků moči asymptomatických pacientek. Původní stanovení senzitivity a specificity testu Aptima TV v systému Tigris DTS provedené během prospektivní klinické studie pravděpodobně lépe vypovídá o skutečné senzitivitě testu při použití vzorků moči, jelikož k prvotnímu testování bylo dostupných více vzorků, vzorky byly čerstvě odebrané (na rozdíl od dlouhodobě skladovaných vzorků v pozdější studii) a oba systémy jsou rovnocenné.

Testem Aptima TV v systému Tigris DTS bylo zkoušeno celkem 738 vzorků moči, 877 vaginálních stěrů, 922 endocervikálních stěrů a 813 vzorků Pap v roztoku PreservCyt. Ve studii se systémem Tigris DTS i ve studii se systémem Panther byla senzitivita u vaginálních stěrů, endocervikálních stěrů a vzorků odebraných do roztoku PreservCyt 100 % u asymptomatických i symptomatických pacientek, účinnost testu u vzorků moči se však lišily.

Ve srovnávací studii testů v systému Tigris DTS a v systému Panther byla zjištěna vysoká shoda obou systémů u všech indikovaných typů vzorku (> 95% pozitivní a negativní shoda). Celková shoda u všech typů vzorku byla 99,2 % (95% CI 98,7–99,5) u 2 056 testovaných vzorků a shoda u 495 testovaných vzorků moči byla 99,6 % (95% CI 98,5–99,9; pozitivní shoda činila 99,0 % u všech typů vzorku a 96,2 % u moči). Před přechodem na systém Panther byla do postupu testu zařazena dodatečná reagentie pro zachycení cíle. V samostatné srovnávací studii bylo prokázáno, že tato přídatná reagentie nenarušuje klinickou účinnost systému Tigris DTS. Celková shoda v této studii činila 99,5 % (95% CI 98,7–99,8) u všech 758 testovaných vzorků a 100 % (95% CI 98,1–100) u 160 vzorků moči testovaných oběma verzemi testu (pozitivní shoda byla 100 % u všech typů vzorku včetně moči). Vzhledem k vysoké shodě obou systémů a verzí testu byla klinická účinnost testu s použitím vzorků moči stanovena na základě výsledků původního testování v systému Tigris DTS, a Tabulka 5 proto uvádí větší vzorek.

Mimo to byly publikovány dvě odborné studie srovnávající test Aptima TV se dvěma dalšími testy na principu amplifikace nukleových kyselin, které byly úřadem FDA schváleny k testování vzorků moči, a v obou případech byla účinnost testu Aptima TV významně srovnatelná (13 a 14). V jednom z těchto článků byla uvedena 100% pozitivní i negativní shoda testu Aptima TV a srovnávacího testu u 412 vzorků moči (13). Ve druhém článku bylo popsáno testování 1 793 vzorků ženské moči během multicentrické klinické studie, kdy test Aptima TV a srovnávací zkouška s amplifikací nukleových kyselin dosáhly 99,4% pozitivní shody (95% CI 96,9–100, n = 178/179) a 99,6% negativní shody (95% CI 99,1–99,8, n = 1 607/1 614) (14). Ve třetím odborném článku byly testem Aptima TV zkoušeny spárované endocervikální stěry a vzorky moči od 369 Kanadčanek. Výsledná shoda mezi oběma typy vzorků činila 99,2 % (15). Lze tedy vyvodit, že test Aptima TV dosahuje stejné spolehlivosti jako jiné komerčně dostupné testy a ve vzorcích moči druh *T. vaginalis* odhaluje stejně přesně jako u jiných typů vzorku. Uvedená senzitivita testu stanovená pomocí vzorků moči v systému Panther je pravděpodobně podhodnocená kvůli omezením vyplývajícím z koncepce studie.

Klinická studie 2. Klinická studie vaginálního stěru odebraného pacientkou a ženské a mužské moči

Klinická účinnost testu Aptima TV na systému Panther byla hodnocena na vzorcích odebraných od subjektů se souhlasem v rámci prospektivní multicentrické klinické studie.

Symptomatictí a asymptomatictí muži a ženy byli zařazeni na 11 geograficky a etnicky různorodých klinických pracovištích v USA, včetně porodnicko-gynekologických klinik, klinik plánování rodiny a klinik pro pohlavně přenosné choroby. Subjekty, které hlásily nějaké symptomy, byly klasifikovány jako symptomatické. Subjekty, které žádné symptomy nehlásily, byly klasifikovány jako asymptomatické.

Od každé hodnocené ženy bylo odebráno až 5 vzorků (4 vaginální stěry odebrané pacientkou, 1 vzorek moči z prvního záchytu) a od každého hodnoceného muže byl odebrán 1 vzorek moči z prvního záchytu. Všechny vzorky byly jednotlivými subjekty odebrány na klinických pracovištích.

Vzorky byly testovány pomocí testu Aptima TV na systému Panther. Vzorky s původními neplatnými výsledky testu Aptima TV byly testovány znovu, pokud to objem umožňoval. Ze všech odebraných vzorků bylo 5 922 vzorků zpracováno v platných cyklech testů Aptima TV. Z nich 5 833 (98,5 %) mělo konečné platné výsledky a 89 (1,5 %) mělo konečné neplatné výsledky, které byly z analýz vyloučeny. Moč a vaginální stěry byly testovány až třemi schválenými NAAT, aby bylo možné stanovit následující interpretaci složeného srovnávacího algoritmu (CCA) specifického pro daný vzorek:

- CCA pro mužskou moč byl zjištěn ze vzorků mužské moči.
- CCA pro ženskou moč byl zjištěn ze vzorků ženské moči.
- Vaginální stěr CCA byl získán ze vzorků vaginálního stěru odebraného pacientkou.

Vzorky byly označeny jako infikované, pokud byl alespoň ve dvou referenčních testech NAAT získán pozitivní výsledek, a jako neinfikované, pokud byly alespoň 2 z referenčních výsledků negativní; třetí referenční výsledek byl vyžadován pouze tehdy, pokud první 2 referenční výsledky byly nesouhlasné. Vzorky, které nebyly označeny jako infekční ani neinfekční, byly z analýz účinnosti vyloučeny. Účinnost testu Aptima TV byla hodnocena ve vztahu k interpretaci CCA specifické pro daný vzorek.

Do analýz porovnávacích výsledky testu Aptima TV s interpretací CCA specifickou pro daný vzorek bylo zahrnuto celkem 5 502 vzorků od 3 820 hodnotitelných subjektů: 1 785 vzorků vaginálního stěru odebraného pacientkou, 1 782 vzorků ženské moči a 1 935 vzorků mužské moči.

Výsledky účinnosti

Charakteristiky účinnosti testu Aptima TV byly odhadnuty pro každý typ vzorku a jsou zobrazeny v Tabulka 5, Tabulka 6 a Tabulka 7 včetně dat ze dvou klinických studií. Algoritmus infikovaného stavu se v obou studiích lišil. Tabulka 5 ukazuje senzitivitu, specificitu, PPV a NPV testu Aptima TV na systému Panther a prevalenci *T. vaginalis* (na základě stavu infikovanosti) podle stavu příznaků a celkově u vzorků vaginálního výtěru, endocervikálního výtěru odebraných klinickým lékařem a u vzorků Pap v roztoku PreservCyt.

Tabulka 6 ukazuje senzitivitu, specificitu, PPV a NPV testu Aptima TV v systému Panther a prevalenci druhu *T. vaginalis* (na základě infikovanosti) u vzorků Pap v roztoku PreservCyt v závislosti na odběrném nástroji. U kapalných vzorků Pap v roztoku PreservCyt byla účinnost podobná u obou variant odběrných nástrojů.

Tabulka 7 ukazuje pozitivní (PPA) a negativní (NPA) procentuální shodu testu u vaginálního stěru odebraného pacientkou a u vzorků moči žen a mužů. Prevalence byla vyšší u symptomatických subjektů.

Tabulka 5: Charakteristiky účinnosti testu Aptima *Trichomonas vaginalis* podle stavu příznaků

Typ vzorku	Stav příznaků	n	TP	FP ¹	TN	FN ²	Prev %	Senzitivita, % (95% CI) ³	Specifita, % (95% CI) ³	PPV, % (95% CI) ⁴	NPV, % (95% CI) ⁴
CVS (Panther)	Asymptomatický	274	12	7 ^a	255	0	4,4	100 (75,8–100)	97,3 (94,6–98,7)	63,2 (45,8–80,9)	100 (98,8–100)
	Symptomatický	393	57	4 ^b	332	0	14,5	100 (93,7–100)	98,8 (97,0–99,5)	93,4 (84,9–98,1)	100 (98,9–100)
	Vše	667	69	11 ^c	587	0	10,3	100 (94,7–100)	98,2 (96,7–99,0)	86,3 (77,9–92,6)	100 (99,4–100)
ES (Panther)	Asymptomatický	309	16	5 ^d	288	0	5,2	100 (80,6–100)	98,3 (96,1–99,3)	76,2 (58,1–90,8)	100 (98,9–100)
	Symptomatický	391	51	7 ^e	333	0	13,0	100 (93,0–100)	97,9 (95,8–99,0)	87,9 (78,1–94,7)	100 (99,0–100)
	Vše	700	67	12 ^f	621	0	9,6	100 (94,6–100)	98,1 (96,7–98,9)	84,8 (76,3–91,5)	100 (99,4–100)
PCyt (Panther)	Asymptomatický	324	18	1 ^g	305	0	5,6	100 (82,4–100)	99,7 (98,2–99,9)	94,7 (76,5–99,9)	100 (98,9–100)
	Symptomatický	406	57	5 ^h	344	0	14,0	100 (93,7–100)	98,6 (96,7–99,4)	91,9 (83,1–97,2)	100 (99,0–100)
	Vše	730	75	6 ⁱ	649	0	10,3	100 (95,1–100)	99,1 (98,0–99,6)	92,6 (85,2–97,1)	100 (99,5–100)
Moč (Panther)	Asymptomatický	279	13	1 ^j	263	2 ^m	5,4	86,7 (62,1–96,3)	99,6 (97,9–99,9)	92,9 (71,6–99,8)	99,2 (97,8–99,9)
	Symptomatický	361	46	4 ^k	309	2 ⁿ	13,3	95,8 (86,0–98,8)	98,7 (96,8–99,5)	92,0 (82,4–97,5)	99,4 (97,9–99,9)
	Vše	640	59	5 ^l	572	4 ^o	9,8	93,7 (84,8–97,5)	99,1 (98,0–99,6)	92,2 (84,0–97,1)	99,3 (98,3–99,8)

Tabulka 5: Charakteristiky účinnosti testu Aptima Trichomonas vaginalis podle stavu příznaků (pokračování)

Moč (Tigris)								95,5	99,0	87,5	99,7
	Asymptomatický	324	21	3	299	1	6,8	(78,2–99,2)	(97,1–99,7)	(71,4–96,9)	(98,4–100)
	Symptomatický	411	59	4	345	3	15,1	95,2 (86,7–98,3)	98,9 (97,1–99,6)	93,7 (85,7–98,1)	99,1 (97,7–99,8)
	Vše	735	80	7	644	4	11,4	95,2 (88,4–98,1)	98,9 (97,8–99,5)	92,0 (85,1–96,4)	99,4 (98,5–99,8)

CI = interval spolehlivosti; CVS = vaginální stěr odebraný lékařem; ES = endocervikální stěr; FN = falešně negativní; FP = falešně pozitivní; PCyt = vzorky Pap v roztoku PreservCyt; Prev = prevalence; TN = pravdivě negativní; TP = pravdivě pozitivní; PPV = pozitivní prediktivní hodnota; NPV = negativní prediktivní hodnota.

¹Výsledky NAAT pro *T. vaginalis* z předchozí studie (počet pozitivních výsledků / počet testovaných vzorků): ^a4/7; ^b3/4; ^c7/11; ^d1/5; ^e2/7; ^f3/12; ^g0/1; ^h3/5; ⁱ3/6; ^j1/1; ^k4/4; ^l5/5.

²Výsledky NAAT *T. vaginalis* z předchozí studie (počet negativních výsledků / počet testovaných vzorků): ^m1/2; ⁿ2/2; ^a3/4.

³Interval spolehlivosti bodování.

⁴Výsledný 95% interval spolehlivosti PPV byl vypočítán z přesného 95% intervalu spolehlivosti u poměru pravděpodobnosti pozitivního výsledku a 95% interval spolehlivosti NPV byl vypočítán z přesného 95% intervalu spolehlivosti u poměru pravděpodobnosti negativního výsledku.

Tabulka 6: Charakteristiky účinnosti testu Aptima Trichomonas vaginalis u vzorků Pap v roztoku PreservCyt v závislosti na odběrném nástroji

Odběrný nástroj ¹	n	TP	FP	TN	FN	Prev %	Senzitivita (95% CI) ²	Specifická (95% CI) ²	PPV, % (95% CI) ³	NPV, % (95% CI) ³
Prostředek typu metlička	391	48	3	340	0	12,3	100 (92,6–100)	99,1 (97,5–99,7)	94,1 (84,7–98,7)	100 (99,0–100)
Špachtle / cytologický kartáček	339	27	3	309	0	8,0	100 (87,5–100)	99,0 (97,2–99,7)	90,0 (75,7–97,8)	100 (98,9–100)

CI = interval spolehlivosti; FN = falešně negativní; FP = falešně pozitivní; Prev = prevalence; TN = pravdivě negativní; TP = pravdivě pozitivní.

¹Všechny výsledky pocházejí z klinické studie 1.

²Interval spolehlivosti skóre.

³Výsledný 95% interval spolehlivosti PPV byl vypočítán z přesného 95% intervalu spolehlivosti u poměru pravděpodobnosti pozitivního výsledku a 95% interval spolehlivosti NPV byl vypočítán z přesného 95% intervalu spolehlivosti u poměru pravděpodobnosti negativního výsledku.

Tabulka 7: Charakteristiky účinnosti testu Aptima TV u vzorků vaginálního stěru odebraných pacientkami a vzorků moči mužů a žen podle stavu příznaků

Typ vzorku	Stav příznaků ¹	n	TP	FP ²	TN	FN ³	Prev %	PPA % (95% CI) ⁴	NPA % (95% CI) ⁴
PVS	Asymptomatický	932	59	3 ^a	868	2 ^a	6,5	96,7 (88,8–99,1)	99,7 (99,0–99,9)
	Symptomatický	853	99	6 ^a	748	0	11,6	100 (96,3–100)	99,2 (98,3–99,6)
	Vše	1 785	158	9	1 616	2	9,0	98,8 (95,6–99,7)	99,4 (99,0–99,7)
FU	Asymptomatický	949	64	0	885	0	6,7	100 (94,3–100)	100 (99,6–100)
	Symptomatický	833	94	0	739	0	11,3	100 (96,1–100)	100 (99,5–100)
	Vše	1 782	158	0	1 624	0	8,9	100 (97,6–100)	100 (99,8–100)
MU	Asymptomatický	1 125	21	1 ^b	1 103	0	1,9	100 (84,5–100)	99,9 (99,5–100)
	Symptomatický	810	21	2 ^c	787	0	2,6	100 (84,5–100)	99,7 (99,1–99,9)
	Vše	1 935	42	3	1 890	0	2,2	100 (91,6–100)	99,8 (99,5–99,9)

CI = interval spolehlivosti; FN = falešně negativní; FP = falešně pozitivní; FU = ženská moč; MU = mužská moč; NPA = negativní procentuální shoda; PPA = pozitivní procentuální shoda; Prev = prevalence; TN = pravdivě negativní; TP = pravdivě pozitivní.

¹Výsledky vaginálního stěru odebraného pacientkou, ženského a mužského vzorku moči pocházejí z klinické studie 2.

²Pokud není uvedeno jinak, byly vzorky stejného typu testovány také alternativním testem *T. vaginalis* NAAT s následujícími výsledky (počet pozitivních výsledků / počet testovaných vzorků); ^aU vzorků PVS nebyl k dispozici žádný výsledek testování s neshodným rozlišením; ^b0/1; ^c0/1 (u 1 vzorku nebyl k dispozici žádný výsledek testování s neshodným rozlišením).

³Pokud to objem umožnil, byly vzorky stejného typu, pokud není uvedeno jinak, testovány také alternativním testem *T. vaginalis* NAAT s následujícími výsledky (počet negativních výsledků / počet testovaných vzorků): ^aU vzorků PVS nebyl k dispozici žádný výsledek testování nesouhlasného rozlišení.

⁴Skóre CI.

Rozdělení RLU u kontrol testu Aptima Trichomonas vaginalis

Rozložení hodnot RLU pro kontrolní testy Aptima TV uvádí Tabulka 8 u všech platných cyklů testů Aptima TV provedených během klinické studie 1 a klinické studie 2.

Tabulka 8: Rozdělení RLU u negativních a pozitivních kontrol testu Aptima TV

Kontrola	Statistika	Celkový počet RLU (x 1 000)	
		Klinická studie 1	Klinická studie 2
Negativní	N	22	155
	Průměr	1,3	NC
	SD	0,99	NC
	Medián	1,0	1,0
	Minimum	0	1
	Maximum	5	12
	CV%	75,5	91,60
Pozitivní	N	22	155
	Průměr	1 262,3	NC
	SD	45,89	NC
	Medián	1 276,0	1 400,0
	Minimum	1 168	1 157
	Maximum	1 322	1 612
	CV%	3,6	5,97

CV% = variační koeficient v procentech; NC = nebylo vypočítáno; RLU = relativní luminiscenční jednotka.

Poznámka: Hodnota RLU hlášená softwarem sloužila jako analytický podklad. Hlášená hodnota RLU je celkový naměřený počet RLU vydělený 1 000 s vypuštěním číslic za desetinnou čárkou.

Analytická účinnost systému Panther

Analytická senzitivita

Pomocí dvou kmenů *T. vaginalis* (jednoho citlivého na metronidazol a druhého s rezistencí vůči metronidazolu) byly vytvořeny soubory vzorků na hodnocení senzitivity. Výsledkem zkoušek byla více než 95% pozitivita u obou kmenů *T. vaginalis* v případě souborů zahrnujících 0,008 TV/ml v matrici vzorku Pap v roztoku PreservCyt, souborů zahrnujících 0,003 TV/ml v moči a souborů zahrnujících 0,001 TV/ml v matrici ze stěru.

Křížová reaktivita v přítomnosti mikroorganismů

Specifická

Specifická testu Aptima TV byla hodnocena testováním různých mikroorganismů, včetně běžné flóry genitourinárního traktu, oportunních organismů a blízkce příbuzných organismů. Testování probíhalo v médiu pro transport vzorků (STM), moči a roztoku PreservCyt v STM s 25 replikátů každého izolátu. Seznam testovaných organismů a koncentrací uvádí Tabulka 9. U žádného z testovaných organismů nebyla zaznamenána křížová reaktivita ani zásadní vliv na specifčnost testu Aptima TV.

Senzitivita

Senzitivita testu Aptima TV byla hodnocena testováním stejných organismů (Tabulka 9) v STM obohaceném o lyzát *T. vaginalis* na konečnou koncentraci 2,5 TV/ml (s 25 replikátů každého izolátu). Lyzát *T. vaginalis* byl přidáván také do STM, moči, a roztoku PreservCyt v STM s konečnou koncentrací 0,01 TV/ml (s 25 replikátů každého izolátu). Senzitivita testu Aptima TV nebyla výrazně ovlivněna přítomností testovaných mikroorganismů s výjimkou druhů *Trichomonas tenax* a *Pentatrichomonas hominis* (u kterých byly zaznamenány slabší výstupní signály). *T. tenax* je komensál v ústní dutině a *Pentatrichomonas hominis* je komensál v tlustém střevě.

Na mezi detekce (0,01 TV/ml) druh *Dientamoeba fragilis* způsoboval mírnou inhibici očekávaných hodnot RLU, senzitivita testu však dotčena nebyla a jedná se o druh *D. fragilis* běžný v gastrointestinálním traktu.

Tabulka 9: Mikroorganismy zkoušené testem Aptima Trichomonas vaginalis

Mikroorganismus	Koncentrace	Mikroorganismus	Koncentrace
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	HPV 16	2,5×10 ⁶ kopií/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	HPV 6	2,5×10 ⁶ kopií/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 ⁶ IFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	2,5 × 10 ⁶ kopií/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Pentatrichomonas hominis</i>	1 x 10 ⁶ buněk/ml
Cytomegalovirus	2 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
Herpes simplex virus I	2 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
Herpes simplex virus II	2 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Trichomonas tenax</i>	1 x 10 ⁶ buněk/ml
HIV-1	2,5×10 ⁶ kopií/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml

Interference

Do STM a roztoku PreservCyt v STM byly individuálně přidány následující látky k dosažení konečné koncentrace 1 % (objemové či hmotnostní): osobní lubrikanty, osobní deodoranty, spermicidy, antimykotika, intravaginální hormony, vepřový žaludeční hlen, semenná tekutina od 25 dárců a plná krev (konečná koncentrace 10 %).

Účinky močových metabolitů byly zkoušeny přidáním přípravku KOVA-Trol I High Abnormal w/ Urobilinogen Urinalysis Control naředěného do média na přepravu moči (UTM) namísto moči. Tento kontrolní materiál na analýzu moči vycházející z lidské moči obsahuje potenciálně rušivé složky jako bílkoviny (albumin), bilirubin, glukózu, ketony, erytrocyty, dusitany, urobilinogen a leukocyty. Ledová kyselina octová byla testována ve směsi roztoku PreservCyt a STM (konečná koncentrace 10 %).

Žádná z testovaných látek s testem Aptima TV neinterferovala s výjimkou vepřového žaludečního hlenu, který v konečné koncentraci 1 % (objemové či hmotnostní) způsoboval slabší výstupní signál.

Studie reprodukovatelnosti

Reprodukovatelnost testu Aptima TV byla hodnocena v systému Panther ve dvou externích amerických laboratořích a ve společnosti Hologic. Testování bylo provedeno celkem šesti uživateli pomocí dvou šarží testovacích reagensů (dva uživatelé na každém pracovišti). Testování na každém pracovišti probíhalo nejméně 6 dní.

Soubor vzorků na zkoušení reprodukovatelnosti obsahoval negativní vzorky moči v médiu na přepravu moči nebo negativní vzorky Pap v roztoku PreservCyt s médiem na přepravu vzorků. Pozitivní vzorky ve zkušební souboru byly vytvořeny obohacením močové matrice nebo vzorků Pap v roztoku PreservCyt odpovídajícím množstvím lyzátu *T. vaginalis*. Konečná koncentrace *T. vaginalis* se pohybovala v rozmezí od 0,002 bičenky/ml do 1 bičenky/ml.

Tabulka 10 obsahuje statistické údaje o RLU u jednotlivých zkušebních vzorků, jmenovitě průměr, směrodatnou odchylku (σ) a variační koeficient (CV) mezi místy odběru, mezi laboranty, mezi šaržemi, mezi měřeními, v rámci měření a celkově. Je zde také uvedena procentuální shoda s očekávanými výsledky. Do analýzy byly zařazeny vzorky s platnými výsledky.

Tabulka 10: Studie reprodukovatelnosti testu Aptima *Trichomonas vaginalis*

Konc.	N	Shoda (%)	Průměrná hodnota RLU	Mezi pracovišti		Mezi laboranty		Mezi šaržemi		Mezi testy		V rámci testu		Celkem	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Vzorky v matrici Pap s roztokem PreservCyt															
Neg	108	99,1	23,5	0,0	0,0	2,7	11,6	0,0	0,0	0,0	0,0	37,5	159,7	37,6	160,1
HNeg	108	90,7	69,3	5,0	7,3	4,5	6,5	6,1	8,8	14,8	21,4	16,0	23,1	23,6	34,1
MPos	108	97,2	348,1	30,3	8,7	33,1	9,5	33,1	9,5	77,0	22,1	62,9	18,1	114,0	32,8
HPos	108	100	1 185,5	0,0	0,0	17,0	1,4	0,0	0,0	28,0	2,4	34,2	2,9	47,4	4,0
Vzorky v močové matrici															
Neg	108	100	1,0	0,2	24,6	0,0	0,0	0,3	28,3	0,0	0,0	0,7	72,3	0,8	81,4
HNeg	107	100	33,1	15,9	48,1	4,9	14,8	0,0	0,0	7,1	21,6	9,3	28,0	20,3	61,5
MPos	108	100	621,9	27,2	4,4	33,5	5,4	37,3	6,0	100,6	16,2	69,4	11,2	134,9	21,7
HPos	108	100	1 208,3	28,8	2,4	0,0	0,0	0,0	0,0	140,4	11,6	41,5	3,4	149,2	12,3

Agmt = shoda; **Konc** = koncentrace; **CV** = variační koeficient; **HNeg** = vysoce negativní; **HPos** = vysoce pozitivní; **MPos** = středně pozitivní; **Neg** = negativní; **RLU** = relativní světelné jednotky; **SD** = směrodatná odchylka.

Poznámka: Hodnota RLU hlášená softwarem je celkový naměřený počet RLU vydělený 1 000 s vypuštěním číslic za desetinnou čárkou.

Variabilita u některých faktorů mohla být záporná. K tomu dochází, když je variabilita u daného faktoru velmi nízká. V takových případech je hodnota SD a CV uvedena jako 0.

Přenos

Abychom ověřili, že systém Panther minimalizuje riziko falešně pozitivních výsledků způsobených kontaminací, provedli jsme vícedenní analytickou studii s využitím souborů obohacených vzorků ve třech systémech Panther se stejnou šarží testovacích reagensů Aptima TV. V této studii jsme použili > 20 % vzorků s velkým obsahem *T. vaginalis* v koncentraci 10 000 TV/ml a negativní vzorky obsahující STM. V průběhu studie bylo ve třech systémech Panther otestováno 698 vzorků s vysokou koncentrací cíle a 2 266 negativních vzorků. Falešně pozitivních výsledků bylo 0, což znamená 0% míru přenosové kontaminace. Tyto výsledky ukazují, že přenos kontaminace je v systému Panther minimální.

Stabilita vzorků

Doporučené přepravní a skladovací podmínky u vaginálních stěrů, moči a vzorků Pap v roztoku PreservCyt byly stanoveny na základě dat, která byla pořízena pomocí negativních klinických vzorků obohacených o *T. vaginalis* na konečnou koncentraci 250 TV/ml. U všech matric (vaginální stěry, moč a vzorky Pap v roztoku PreservCyt) byla pozorována více než 97% pozitivita, a to po celou dobu a za všech testovaných teplot, což potvrzuje platnost maximálních skladovacích teplot a dob skladovatelnosti uvedených v části *Odběr a skladování vzorků*.

Literatura

1. **Weinstock, H., S. Berman, and W. Cates Jr.** 2004. Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates, 2000. *Perspect. Sex. Reprod. Health* **36**(1):6-10.
2. **Soper, D.** 2004. Trichomoniasis: under control or undercontrolled? *Am. J. Obstet. Gynecol.* **190**(1):281-290.
3. **Cotch, M. F., J. G. Pastorek II, R. P. Nugent, S. L. Hillier, R. S. Gibbs, D. H. Martin, et al.** 1997. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex. Transm. Dis.* **24**:353-360.
4. **Sorvillo, F. J., A. Kovacs, P. Kerndt, A. Stek, L. Muderspach, and L. Sanchez-Keeland.** 1998. Risk factors for trichomoniasis among women with HIV infection at a public clinic in Los Angeles County; Implications for HIV prevention. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **58**:495-500.
5. **Niccolai, L. M., J. J. Kopicko, A. Kassie, H. Petros, R. A. Clark, and P. Kissinger.** 2000. Incidence and predictors of reinfection with *Trichomonas vaginalis* in HIV-infected women. *Sex. Transm. Dis.* **27**:284-288.
6. Gaydos C.A., M.R. Barnes, N. Quinn, M. Jett-Goheen Y.H. Hsieh. 2013. *Trichomonas vaginalis* infection in men who submit self- collected penile swabs after internet recruitment. *Sex. Transm. Infect.* **89**(6):504-8.
7. Daugherty M., K. Glynn, and T. Byler. 2019. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* Infection Among US Males. *Clin. Infect. Dis.* **68**(3):460- 465.
8. Munson K.L., M. Napierala, E. Munson, R.F. Schell, T. Kramme, C. Miller, J.E. Hryciuk. 2013. Screening of male patients for *Trichomonas vaginalis* with transcription-mediated amplification in a community with a high prevalence of sexually transmitted infection. *J. Clin. Microbiol.* **51**(1):101-4.
9. Schwebke J., A. Merriweather, S. Massingale, M. Scisney, C. Hill, D. Getman. 2018. Screening for *Trichomonas vaginalis* in a Large High-Risk Population: Prevalence Among Men and Women Determined by Nucleic Acid Amplification Testing. *Sex. Transm. Dis.* **45**(5):e23-e24.
10. **Nye, M. B., J. R. Schwebke, and B. A. Body.** 2009. Comparison of Aptima *Trichomonas vaginalis* transcription-mediated amplification to wet mount microscopy, culture, and polymerase chain reaction for diagnosis of trichomoniasis in men and women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **200**:188.e1-188.e7.
11. **Wendel, K. A., E. J. Erbeding, C. A. Gaydos, and A. M. Rompalo.** 2002. *Trichomonas vaginalis* polymerase chain reaction compared with standard diagnostic and therapeutic protocols for detection and treatment of vaginal trichomoniasis. *Clin. Infect. Dis.* **35**(5):576-580
12. **Van Der Pol, B.** 2015. Clinical and Laboratory Testing for *Trichomonas vaginalis* Infection. *J of Clin Microbiol.* **54** (1) 7-12.
13. **Marlowe E. M., P. Gohl, M. Steidle, R. Arcenas, and C. Bier** 2019. *Trichomonas vaginalis* Detection in Female Specimens with cobas® TV/MG for use on the cobas® 6800/8800 Systems. *European J. of Microbiol. & Immunol.* **9**(2), 42–45.
14. **J. R. Schwebke , C. A. Gaydos, T. Davis, J. Marrazzo, D. Furgerson, S. N. Taylor, B. Smith, L. H. Bachmann, R. Ackerman, T. Spurrell, D. Ferris, C. A. Burnham, H. Reno, J. Lebed, D. Eisenberg, P. Kerndt, S. Philip, J. Jordan, and N. Quigley** 2018. Clinical Evaluation of the Cepheid Xpert TV Assay for Detection of *Trichomonas vaginalis* with Prospectively Collected Specimens from Men and Women. *J of Clin Microbiol.* **56**(2), e01091-17.
15. **Gratrix J., S. Plitt, L. Turnbull, P. Smyczek, J. Brandley, R. Scarrott, P. Naidu, L. Bertholet, M. Chernesky, R. Read, & A. E. Singh** 2017. *Trichomonas vaginalis* Prevalence and Correlates in Women and Men Attending STI Clinics in Western Canada. *Sexually transmitted diseases.* **44**(10), 627–629.

Kontaktní informace a historie revizí

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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium



Australian Sponsor
Hologic (Australia &
New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park, NSW 2113

E-mailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb požadované země najdete na adrese www.hologic.com/support.

Závažné události, ke kterým v souvislosti s prostředkem dojde v Evropské unii, se musí hlásit výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel nebo pacient usazen.

Hologic, Aptima, DTS, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris a související loga jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc., nebo jejích dceřiných společností na území USA nebo jiných zemí.

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

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

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

©2009–2024 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-31091-2601 Rev. 002
2024-06

Historie revizí	Datum	Popis
AW-31091 Rev. 001	Duben 2024	<ul style="list-style-type: none"> Vytvoření komerční verze návodu k použití testu Aptima Trichomonas vaginalis, AW-31091 Rev. 001, pro splnění požadavků IVDR (ExUS) na základě verze návodu k použití testu Aptima Trichomonas vaginalis, AW-31091 Rev. 002 (ExUS), která byla předložena regulačním orgánům.
AW-31091 Rev. 002	Červen 2024	<ul style="list-style-type: none"> Aktualizována část bezpečnostního listu o jakékoliv novější informace. Implementovány administrativní aktualizace v celém dokumentu.