

Test Aptima™ pour *Neisseria gonorrhoeae*

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine.

Information générale	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principes de la procédure	3
Avertissements et précautions	4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs	7
Collecte et conservation des échantillons	8
Interprétation des tests – CQ/Résultats patients	37
Limites	40
Résultats des études cliniques	42
Valeurs attendues pour les DTS Systems	43
Rendement du test avec les DTS Systems	46
Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System	64
Rendement analytique du Tigris DTS System	68
Rendement analytique du Panther System	72
Bibliographie	74

DTS™ Systems

DTS Systems	10
Réactifs et matériel fournis	10
Matériel requis mais vendu séparément	12
Matériel optionnel	13
Procédure de test à l'aide des DTS Systems	13
Remarques concernant la procédure	19

Tigris™ DTS™

Tigris DTS System	23
Réactifs et matériel fournis	23
Matériel requis mais vendu séparément	25
Matériel optionnel	26
Procédure de test pour le Tigris DTS System	26
Remarques concernant la procédure	29

Panther™

Panther System	30
Réactifs et matériel fournis	30
Matériel requis mais vendu séparément	31
Matériel optionnel	32
Procédure de test pour le Panther System	32
Remarques concernant la procédure	35

Information générale

Usage prévu

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

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

Résumé et explication du test

Les infections à *Neisseria gonorrhoeae* représentent l'une des infections transmissibles sexuellement les plus courantes au monde. En 2010 (2), les Centres de contrôle des maladies (Centers for Disease Control) ont recensé, sur le territoire américain uniquement, un nombre de cas de nouvelles infections à GC estimé à 309 341 (100,8 cas sur 100 000).

N. gonorrhoeae est l'agent responsable des maladies gonococciques. Les *Neisseria* sont des diplocoques Gram-négatifs non motiles. La majorité des infections gonococciques prennent la forme d'infections du tractus génital inférieur dénuées de complications et peuvent être asymptomatiques. Toutefois, si elles ne sont pas traitées chez la femme, ces infections peuvent remonter vers l'utérus et provoquer des atteintes inflammatoires pelviennes (AIP). Ces AIP se manifestent sous forme d'endométrites, de salpingites, de pelvipéritonites et d'abcès ovario-tubaires. Un faible pourcentage des personnes souffrant d'infections gonococciques peut développer des infections gonococciques disséminées (DGI) (8, 11).

Le diagnostic conventionnel de l'infection à GC nécessite l'isolation de l'organisme dans un support sélectif ou l'observation des diplocoques sur des frottis à coloration de Gram (9). Les méthodes de culture peuvent offrir une bonne sensibilité clinique, mais elles dépendent fortement de la qualité de la manipulation des échantillons. De mauvaises conditions de conservation ou de transport des échantillons peuvent affecter la viabilité des organismes et donner des résultats faussement négatifs. En outre, des techniques d'échantillonnages médiocres, du matériel d'échantillonnage toxique et l'inhibition de la croissance par des composants de sécrétion corporelle, peuvent également entraîner des résultats faussement négatifs (3, 10). Hormis les cultures, les méthodes couramment utilisées pour la détection de GC comprennent les tests de sonde de DNA directs ainsi que les tests d'amplification de l'acide nucléique (TAAN).

La première génération de TAAN pour GC présentait des problèmes techniques qui en ont limité la performance. Ces problèmes étaient notamment liés à des difficultés de traitement des échantillons et à leur inhibition pouvant introduire des résultats faussement négatifs (6). Le test Aptima pour *Neisseria gonorrhoeae* (Test GC Aptima) est un TAAN de deuxième génération qui utilise les techniques de capture de cible, d'amplification par transcription (Transcription-Mediated Amplification, TMA™), ainsi que le test de protection contre l'hybridation (Hybridization Protection Assay, HPA) pour simplifier le traitement des échantillons, amplifier le rRNA cible, et détecter l'amplicon. Des études récentes comparant le rendement et l'inhibition des échantillons de divers systèmes d'amplification ont montré les avantages des techniques de capture de cible, de TMA et de HPA (4, 7).

Conformément aux directives de dépistage de *Chlamydia trachomatis* et de *Neisseria gonorrhoeae* publiées en 2002, les CDC recommandent un certain nombre d'options de suivi après un test de dépistage positif « si l'on peut s'attendre à une valeur prédictive positive faible ou si un résultat faussement positif risque d'entraîner de graves répercussions psychosociales ou légales » (1). L'une des ces options de tests supplémentaires peut consister à utiliser un test d'amplification de l'acide nucléique autorisé par la FDA qui utiliserait une autre cible que celle du test initial. Les tests GC Aptima et Aptima Combo 2™ ciblent chacun la sous-unité 16S du rRNA pour la capture et la détection. La sonde de capture est similaire dans les deux tests, à cette différence toutefois que le test GC Aptima reconnaît une région différente de la sous-unité 16S du rRNA pour la détection de celle du test Aptima Combo 2.

Principes de la procédure

Le test GC Aptima associe les techniques de la capture de cible, de la TMA et du HPA.

Les échantillons sont collectés et transférés dans leurs tubes de transport d'échantillon respectifs. La solution de transport de ces tubes libère la cible de rRNA et l'empêche de se dégrader pendant la période de conservation. Lorsque le test GC Aptima est effectué en laboratoire, la molécule de rRNA cible est isolée des échantillons en utilisant un oligomère de capture par la méthode dite de « capture de cible » à l'aide de microparticules magnétiques. L'oligomère de capture contient une séquence complémentaire à une région précise de la molécule cible, de même qu'une chaîne de résidus de désoxyadénosine. Lors de l'étape d'hybridation, la région spécifique de la séquence de l'oligomère de capture se fixe sur une région précise de la molécule cible. Le complexe oligomère de capture/cible est ensuite capturé hors de la solution par la réduction de la température de la réaction à température ambiante. Cette réduction de température permet à l'hybridation de se produire entre la région désoxyadénosine de l'oligomère de capture et les molécules de poly-désoxythymidine liées par covalence aux particules magnétiques. Les microparticules, y compris les molécules cibles capturées auxquelles elles sont liées, sont attirées vers la paroi du tube de réaction par des aimants, et le surnageant est aspiré. Les particules sont lavées afin d'éliminer la matrice résiduelle de l'échantillon qui peut contenir des inhibiteurs de la réaction d'amplification. Une fois les étapes de capture de cible terminées, les échantillons sont prêts à l'amplification.

Les tests d'amplification de cible reposent sur la capacité des amorces d'oligonucléotides complémentaires de s'hybrider spécifiquement et de permettre l'amplification enzymatique des brins de l'acide nucléique cible. La réaction TMA de Hologic réplique une région spécifique du rRNA 16S de CT via des formes intermédiaires d'e DNA. On utilise un seul jeu d'amorces pour chaque molécule cible. La détection des séquences du produit de l'amplification du rRNA (amplicon) s'effectue par l'hybridation de l'acide nucléique. Une sonde de DNA monocaténaire chimioluminescente, qui est complémentaire à une région de l'amplicon cible, est marquée à l'aide d'une molécule d'ester d'acridinium. La sonde de DNA

marquée se combine à l'amplicon pour former des hybrides RNA:DNA stables. Le réactif de sélection différencie la sonde hybridée de celle qui ne l'est pas, éliminant ainsi la génération de signal par la sonde non hybridée. Lors de l'étape de détection, la lumière émise par les hybrides RNA:DNA marqués est mesurée en signaux de photons dans un luminomètre et exprimée en unités relatives de lumière (Relative Light Units, RLU).

Avertissements et précautions

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

Recommandations concernant les laboratoires

- D. N'utiliser que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- E. Appliquer les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail signalées. Porter des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et une blouse de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Bien se laver les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du kit.
- F. **Avertissement : irritants, corrosifs.** Éviter que les solutions Auto Detect 1 et Auto Detect 2 entrent en contact avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact de ces liquides avec la peau ou les yeux, laver la zone touchée à l'eau. En cas de déversement de ces liquides, diluer le produit répandu à l'eau avant de l'essuyer.
- G. Les plans de travail, les pipettes et le matériel utilisé doivent être régulièrement décontaminés à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

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

Recommandations concernant les échantillons

- J. Dans le cas des échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins collectés à l'aide d'un écouvillon, n'utiliser que le kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon. Concernant la collecte des échantillons d'urine, n'utiliser que le kit de collecte d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins. Dans le cas des échantillons collectés par la patiente ou par le clinicien à l'aide d'un écouvillon vaginal, n'utiliser que le kit de collecte d'échantillons – écouvillon vaginal Aptima.
- K. Les dates de péremption figurant sur les kits de collecte concernent le site de collecte, et non l'établissement effectuant les tests. Les échantillons collectés avant la date de péremption du kit de collecte, puis transportés et conservés conformément à la notice du test, sont valides pour être testés même si la date de péremption du tube de collecte est dépassée.
- L. La solution PreservCyt a été validée comme milieu de remplacement pour les analyses effectuées avec le test GC Aptima. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt traités avec le processeur ThinPrep 3000 ou d'autres instruments n'ont pas été évalués pour la détection de *Neisseria gonorrhoeae* au moyen du test GC Aptima.
- M. Une fois l'urine versée dans le tube de transport d'urine, le niveau de liquide de ce tube doit se situer entre les deux lignes indicatrices noires sur l'étiquette du tube. Dans le cas contraire, l'échantillon doit être rejeté.
- N. Observer des conditions de conservation adéquates pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.
- O. Les échantillons peuvent être infectieux. Respecter les précautions universelles lors de la réalisation de ce test. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates. Seul le personnel ayant reçu une formation adéquate pour manipuler des substances infectieuses devrait être autorisé à effectuer cette procédure de diagnostic.
- P. Éviter toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veiller à éviter tout contact entre les différents récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changer de gants en cas de contact avec l'échantillon.

- Q. Si le laboratoire reçoit un tube de transport d'échantillons sur écouvillon ne contenant pas d'écouvillon ou contenant deux écouvillons, un écouvillon de nettoyage ou un écouvillon non fourni par Hologic, l'échantillon doit être rejeté. Avant de rejeter un tube de transport d'échantillons ne contenant pas d'écouvillon, vérifier qu'il ne s'agit pas d'un tube de transfert d'échantillons Aptima étant donné que ce type de tube ne contient pas d'écouvillon.
- R. Concernant les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, effectuer leur collecte conformément aux instructions du fabricant. Les aliquotes qui ont été retirées ultérieurement du flacon PreservCyt pour être analysées au moyen du test GC Aptima doivent être traitées uniquement au moyen du kit de transfert d'échantillons Aptima.
- S. Si le bouchon d'un tube de transport Aptima venait à être perforé, le liquide pourrait s'écouler sous certaines conditions. Suivre les instructions de la *Procédure de test* appropriée afin d'éviter cette situation.

Recommandations concernant les tests

- T. Le rendement des échantillons collectés à l'aide d'un écouvillon vaginal n'a pas été évalué chez les femmes enceintes.
- U. Le rendement des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt n'a pas été évalué chez les adolescents de moins de 16 ans.
- V. Ne pas utiliser ce kit après la date de péremption.
- W. Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de kits portant différents numéros de lot. Il est possible d'utiliser les témoins et les solutions provenant de kits Aptima portant différents numéros de lot.

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

- X. Des embouts de pipette munis de filtres hydrophobes doivent être utilisés. Au moins deux pipeteurs à répétition doivent être réservés à une utilisation pour ce test : un premier pour les étapes de capture de cible et d'amplification et un deuxième pour les étapes du test HPA. Deux micro-pipeteurs doivent être réservés à une utilisation pour ce test : un premier pour le transfert des échantillons et un deuxième pour la préparation des réactifs. Tous les pipeteurs doivent être régulièrement nettoyés conformément aux instructions indiquées sous *Procédure de test à l'aide des DTS Systems, Remarques concernant la procédure*.
- Y. Si des pipeteurs à répétition sont utilisés pour ajouter des réactifs, ne pas toucher le tube avec l'embout de la pipette afin d'éviter toute contamination d'un tube à l'autre.
- Z. Un mélange adéquat est nécessaire pour obtenir des résultats de test précis. Pour de plus amples détails, consulter *Procédure de test à l'aide des DTS Systems, Remarques concernant la procédure*.
- AA. Réserver des bains-marie distincts aux étapes de capture de cible, d'amplification et du test HPA lors du test.
- AB. La reproductibilité du test a été établie en utilisant le milieu de transport des écouvillonsensemencé avec du rRNA. La reproductibilité lors des tests d'échantillons sur écouvillon et urinaires contenant l'organisme cible n'a pas été déterminée.

AC. Les cartes de protection doivent être jetées dans le récipient à déchets immédiatement après avoir été retirées des tubes réactionnels. Des cartes de protection neuves doivent toujours être utilisées; elles ne doivent jamais être réutilisées d'une étape à l'autre. Les cartes de protection doivent être fermement apposées sur le dessus de tous les tubes de réaction.

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

- A. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C (réfrigérés) :
- Réactif d'amplification GC Aptima
 - Réactif enzymatique Aptima
 - Réactif-sonde GC Aptima
 - Réactif de capture de cible B Aptima
 - Témoin positif GC/témoin négatif CT Aptima
 - Témoin positif CT/témoin négatif GC Aptima
- B. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C :
- Solution de reconstitution de l'amplification GC Aptima
 - Solution de reconstitution enzymatique Aptima
 - Solution de reconstitution de sonde GC Aptima
 - Réactif de sélection Aptima
- C. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 15 °C et 30 °C (température ambiante) :
- Réactif de capture de cible GC Aptima
 - Solution de lavage Aptima
 - Tampon Aptima pour solution de désactivation
 - Réactif huileux Aptima
- D. La préparation de réactif de capture de cible GC (working Target Capture Reagent, wTCR GC) est stable pendant 60 jours lorsqu'elle est conservée entre 15 °C et 30 °C. Ne pas réfrigérer.
- E. Une fois reconstitués, le réactif enzymatique, le réactif d'amplification GC et le réactif-sonde GC restent stables pendant 60 jours s'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C.
- F. Jeter tout réactif reconstitué et wTCR non utilisé au bout de 60 jours ou après la date de péremption du lot de référence si celle-ci survient avant.
- G. Les témoins sont stables jusqu'à la date indiquée sur les flacons.
- H. Les réactifs des flacons pour 100 tests chargés dans le Tigris DTS System sont stables pendant 96 heures une fois chargés.
- I. Si des réactifs sont conservés en restant intégrés au Panther System, leur stabilité intégrée ne dépassera pas 72 heures.

- J. Le réactif-sonde GC et le réactif-sonde GC reconstitué sont photosensibles. Conserver les réactifs à l'abri de la lumière.
- K. Lorsqu'ils parviennent à température ambiante, certains tubes de solution témoin peuvent être troubles ou contenir des précipités. La turbidité ou la précipitation associée à ces témoins n'a aucune influence sur leur rendement. Les témoins peuvent être utilisés peu importe qu'ils soient limpides ou troubles/précipités. Si l'on souhaite travailler avec des contrôles limpides, il est possible d'accélérer la solubilisation en les incubant aux valeurs maximales de la plage de température ambiante (15 °C à 30 °C).
- L. Ne pas congeler les réactifs.**

Collecte et conservation des échantillons

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

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

A. Instructions de prélèvement :

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

B. Transport et conservation des échantillons avant le test :

1. Échantillons sur écouvillon :

- a. Une fois l'écouvillon collecté, le transporter et le conserver dans le tube de transport d'échantillon sur écouvillon entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons doivent être testés avec le test GC Aptima dans les 60 jours qui suivent leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congeler entre -20 °C et -70 °C pendant 12 mois maximum après la collecte (voir *Études de la stabilité des échantillons*).

2. Échantillons d'urine :

- a. Les échantillons d'urine qui sont encore dans le récipient de collecte principal doivent être transportés au laboratoire à une température de 2 °C à 30 °C. Transférer l'échantillon d'urine dans le tube de transport pour échantillons d'urine Aptima dans les 24 heures qui suivent sa collecte. Conserver entre 2 °C et 30 °C et effectuer le test dans les 30 jours qui suivent la collecte.
- b. Une fois collectés, transporter les échantillons d'urine traités dans le tube de transport d'échantillons d'urine Aptima entre 2 °C et 30 °C et les conserver entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons d'urine traités doivent être testés avec le test GC Aptima dans les 30 jours qui suivent leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congeler entre -20 °C et

-70 °C pendant 12 mois maximum après la collecte (voir *Études de la stabilité des échantillons*).

3. Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt :
 - a. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt destinés aux tests GC doivent être utilisés, en ce qui concerne la cytologie et/ou transférés dans un tube de transfert d'échantillon Aptima, dans les 30 jours qui suivent leur collecte lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C (voir *Études de la stabilité des échantillons*).
 - b. Si la procédure de retrait d'une aliquote ThinPrep est utilisée, se référer au *Manuel de l'utilisateur du processeur ThinPrep 2000 ou ThinPrep 3000 - Addendum (ThinPrep 2000 ou ThinPrep 3000 Processor Operator's Manual - Addendum)* pour obtenir des renseignements sur la procédure de retrait d'une aliquote. Transférer 1 mL de l'aliquote collectée dans un tube de transfert d'échantillon Aptima conformément à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima.
 - c. En cas de test de l'échantillon après son traitement avec le système ThinPrep 2000, traiter l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt conformément au *Manuel de l'utilisateur du processeur ThinPrep 2000 (ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual)* ou à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima. Transférer 1 mL du liquide restant dans le flacon de solution PreservCyt dans un tube de transfert d'échantillon Aptima conformément à la notice de test du kit de transfert d'échantillons Aptima.
 - d. Une fois l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt transféré dans le tube de transfert d'échantillon Aptima, il doit être testé avec le test GC Aptima dans les 30 jours s'il est conservé entre 2 °C et 8 °C ou 14 jours s'il est conservé entre 15 °C et 30 °C. Si une durée de conservation plus longue est nécessaire, le congeler entre -20 °C et -70 °C jusqu'à 12 mois maximum après son transfert (voir *Études de la stabilité des échantillons*).

C. Conservation des échantillons après les tests :

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

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

DTS Systems

Les réactifs du test GC Aptima sont énumérés ci-dessous pour les DTS Systems. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériel fournis

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

Kit de test Aptima pour Neisseria gonorrhoeae, 100 tests (2 boîtes) (N° de cat. 301091)

Test Aptima pour Neisseria gonorrhoeae Boîte réfrigérée (Boîte 1 de 2)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

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

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

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

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

Test Aptima pour *Neisseria gonorrhoeae* Boîte à température ambiante (Boîte 2 de 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

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

Matériel requis mais vendu séparément

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

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

	<u>N° de référence</u>
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A

Matériel optionnel

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

Procédure de test à l'aide des DTS Systems

A. Préparation du matériel

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

B. Reconstitution des réactifs

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

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification GC, le réactif enzymatique GC et le réactif-sonde GC, mélanger la solution de reconstitution aux bouteilles de réactif

lyophilisé. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laisser leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.

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

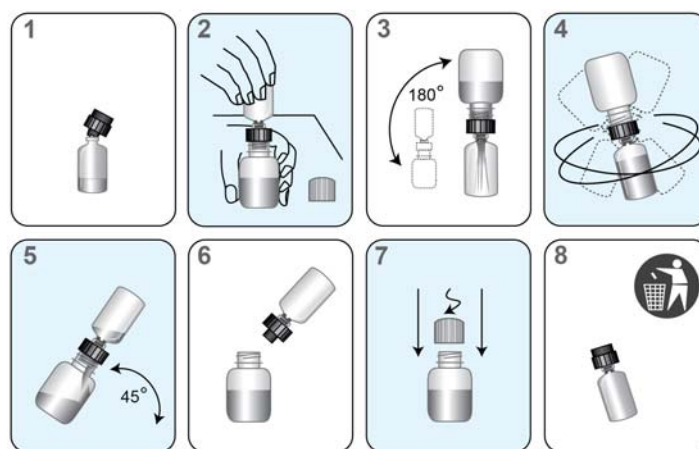


Figure 1. Processus de reconstitution pour les DTS Systems

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

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

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

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

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

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

C. Capture de cible

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

Installation des portoirs

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

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

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

Capture de cible

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

11. Couvrir les TTU de cartes de protection et agiter délicatement le portoir manuellement. **Ne pas vortexer.** Incuber le portoir à 62 °C ± 1 °C dans un bain-marie pendant 30 ± 5 minutes.
12. Retirer le portoir du bain-marie et sécher le fond des tubes sur un matériau absorbant.
13. Vérifier que les cartes de protection sont fermement positionnées. Au besoin, les remplacer par de nouvelles cartes de protection et fermer hermétiquement les TTU.
14. Vortexer le portoir pendant 60 secondes sur le vortexeur multi-tubes. Consulter *Remarques concernant la procédure, Agitation au vortex* pour de plus amples détails. Le portoir doit être vortexé dans les 2 minutes qui suivent son retrait du bain-marie.
15. Sans retirer les cartes de protection, incuber le portoir à température ambiante pendant 30 ± 5 minutes.
16. Placer le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 5 à 10 minutes.
17. Amorcer la conduite de la pompe du poste de distribution en pompant la solution de lavage Aptima dans la rampe de distribution. Pomper une quantité suffisante de

liquide dans le système afin qu'il ne reste aucune bulle d'air dans la tubulure et que les dix têtes distribuent un flux régulier de liquide.

18. Mettre la pompe à vide en marche et débrancher la rampe d'aspiration du premier connecteur situé entre la rampe d'aspiration et le flacon piège. S'assurer que la jauge de vide satisfait les spécifications du test de fuite.¹ L'obtention de ce chiffre peut prendre 15 secondes. Rebrancher la rampe d'aspiration et vérifier que la jauge de dépression soit conforme à la spécification du niveau de dépression. Ne pas éteindre la pompe à vide avant que toutes les étapes de la capture de cible soient terminées et que la tubulure de la rampe d'aspiration soit sèche.
19. Fixer fermement la rampe d'aspiration au premier jeu d'embouts. Aspirer tout le liquide en abaissant les embouts dans la première TTU jusqu'à ce qu'ils touchent brièvement le fond des tubes. Ne pas maintenir les embouts en contact avec le fond des tubes.
20. Une fois l'aspiration terminée, éjecter les embouts dans leur TTC d'origine. Recommencer les étapes d'aspiration pour les TTU restantes en utilisant un embout dédié par échantillon.
21. Placer la rampe de distribution sur chaque TTU et, à l'aide de la pompe du poste de distribution, verser 1,0 mL de solution de lavage Aptima dans chacun des tubes de la TTU.
22. Couvrir les tubes d'une carte de protection et retirer le portoir de la base magnétique du TCS. Vortexer le portoir une fois sur le vortexeur multi-tubes. Consulter *Remarques concernant la procédure, Agitation au vortex* pour de plus amples détails.
23. Placer le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 5 à 10 minutes.
24. Aspirer tout le liquide comme aux Étapes 19 et 20.
25. Après l'aspiration finale, retirer le portoir de la base magnétique du TCS et inspecter visuellement les tubes pour vérifier que le liquide a été totalement aspiré et que tous les tubes contiennent des culots de billes magnétiques. S'il reste visiblement du liquide, remettre le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 2 minutes et refaire l'aspiration pour cette TTU en prenant les mêmes embouts que ceux utilisés précédemment avec chaque échantillon.

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

D. Amplification

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

1. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 75 µL du réactif d'amplification GC reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels du portoir devraient maintenant avoir une teinte rouge.
2. À l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 200 µL de réactif huileux dans chaque tube de réaction.
3. Couvrir les tubes d'une carte de protection et les vortexer sur le vortexeur multi-tubes.
4. Incuber le portoir dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 10 ± 5 minutes.
5. Transférer le portoir dans un bain-marie à 42 °C ± 1 °C et incuber pendant 5 ± 2 minutes.

¹ Consulter la Fiche des spécifications de dépression du système de capture située au verso du *Manuel de l'utilisateur du système de capture de cible (Target Capture System Operator's Manual)* ou communiquer avec le Service technique.

6. Une fois le portoir dans le bain-marie, retirer soigneusement la carte de protection et, à l'aide du pipeteur à répétition, ajouter 25 µL du réactif enzymatique reconstitué dans chaque tube de réaction. Tous les mélanges réactionnels devraient maintenant avoir une teinte orange.
7. Couvrir immédiatement les tubes d'une nouvelle carte de protection, retirer le portoir du bain-marie et mélanger les tubes de réaction en agitant délicatement le portoir manuellement.
8. Incuber le portoir dans un bain-marie à 42 °C ± 1 °C pendant 60 ± 15 minutes.

E. Test de protection contre l'hybridation (Hybridization Protection Assay, HPA)

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

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

1. Hybridation

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

2. Sélection

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

3. Détection

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

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

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

- b. Pour utiliser le luminomètre Leader HC+ et le logiciel de test Aptima, consulter le *Manuel de l'utilisateur du luminomètre Leader HC+ (Leader HC+ Luminometer Operator's Manual)* ainsi que le *Manuel de l'utilisateur du logiciel de test Aptima (Aptima Assay Software Operator's Manual)*.
- c. Vérifier que les volumes d'Auto Detect 1 et d'Auto Detect 2 sont suffisants pour procéder aux tests.
- d. Préparer le luminomètre Leader HC+ en plaçant une TTU vide dans la position de cassette numéro 1 et effectuer le protocole **Wash** (lavage).
- e. Charger les TTU dans le luminomètre.

- f. Se connecter à l'ordinateur. Cliquer sur **New Run** (nouvelle série), choisir **Aptima GC Assay Protocol** (protocole de test GC Aptima) et entrer le nombre de tubes (contrôles et échantillons). Cliquer sur **Next** (suivant) pour commencer la série.

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

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

Remarques concernant la procédure

A. Témoins

Pour fonctionner correctement avec le logiciel de test Aptima, le contrôle négatif pour GC, qui porte l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC », doit se trouver à la première position de la première unité TTU. Le contrôle positif pour GC, qui porte l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT », doit se trouver à la seconde position de la première unité TTU. S'ils sont placés dans la mauvaise position, la série échouera. Tout témoin supplémentaire doit être entré en tant qu'échantillon de patient et l'utilisateur doit veiller à ce qu'il soit acceptable. Le contrôle positif pour CT sert de contrôle négatif au test GC Aptima.

B. Pipetage des témoins et des échantillons

Le volume de contrôle ou d'échantillon ajouté au tube réactionnel doit être de 400 μL \pm 100 μL . Il est recommandé d'inspecter visuellement le volume pipeté dans le tube de réaction pour veiller à ce que le volume transféré soit adéquat. Le volume de témoin ou d'échantillon doit être adéquat pour obtenir des résultats précis. Si le volume pipeté n'est pas suffisant, pipeter à nouveau le wTCR GC ainsi que le contrôle ou l'échantillon dans un nouveau tube réactionnel.

C. Réactifs

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

D. Température

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

E. Durée

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

F. Agitation au vortex

La qualité de l'agitation au vortex est importante pour assurer la bonne performance du test GC Aptima. Si l'agitation au vortex est effectuée de manière adéquate, la suspension tourne à une vitesse capable de faire monter la solution dans la moitié supérieure du tube. Cette manipulation (agitation au vortex) est maintenue pendant une durée précise. Pour vortexer des réactions, régler la vitesse du vortexeur multi-tubes sur le réglage le plus bas, fixer solidement le portoir en place et mettre le vortexeur en marche.

Augmenter lentement la vitesse jusqu'à ce que le liquide atteigne la moitié supérieure du tube. Vortexer pendant 10 secondes, la durée recommandée, ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme. Ensuite, tourner la vitesse sur le réglage le plus bas avant d'éteindre le vortexeur multi-tubes et de retirer le portoir. Les mélanges réactionnels ne doivent jamais toucher les cartes de protection.

G. Bains-marie

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

H. Décontamination

1. Surfaces et pipeteurs

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

2. Rampe d'aspiration du TCS

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

3. Récipient à déchets du TCS

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

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

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

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

4. Appareil TCS

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

5. Portoirs

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

I. Contamination des tests

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

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

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

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

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

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

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

K. Dépannage

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

Tigris DTS System

Les réactifs du test GC Aptima sont énumérés ci-dessous pour le Tigris DTS System. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériel fournis

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

Kit de test Aptima pour *Neisseria gonorrhoeae*

100 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôles) (N° de cat. 303092)

Test Aptima pour *Neisseria gonorrhoeae* Boîte réfrigérée (Boîte 1 de 2)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

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

Test Aptima pour *Neisseria gonorrhoeae* Boîte à température ambiante (Boîte 2 de 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
		Kit de 100 tests
AR	Solution de reconstitution de l'amplification GC Aptima <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 11,9 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique Aptima <i>Solution tamponnée de HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 6,3 mL

Test Aptima pour Neisseria gonorrhoeae Boîte à température ambiante (Boîte 2 de 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

		Quantité
Symbole	Composant	Kit de 100 tests
PR	Solution de reconstitution de sonde GC Aptima <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 15,2 mL
S	Réactif de sélection Aptima <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 x 43,0 mL
TCR	Réactif de capture de cible GC Aptima <i>Solution saline tamponnée contenant des oligomères de capture en phase solide.</i>	1 x 26,0 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des code-barres de lot de référence	1 fiche

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

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

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

Matériel requis mais vendu séparément

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

	<u>N° de référence</u>
Tigris DTS System	105118
Kit de liquides pour tests Aptima <i>(Solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima)</i>	302382
Kit Auto Detect Aptima	301048
Kit de conservateur de liquide système Aptima	302380
Embouts, 1000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Kit pour séries Tigris DTS System contenant	301191
Unités multi-tubes (Multi-tube Units, MTU)	104772-02
Kit de sacs pour MTU/embouts usagés	900907
Déflecteur de déchets pour MTU	900931
Couvre-déchets pour MTU	105523
Kit de transfert d'échantillons Aptima <i>à utiliser avec les échantillons dans la solution PreservCyt</i>	301154C
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon vaginal Aptima	301162
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Eau pour le Tigris DTS System <i>consulter le Manuel de l'utilisateur du Tigris DTS System (Tigris DTS System Operator's Manual) pour connaître les spécifications</i>	—
Gants jetables	—
Solution étalon SysCheck	301078
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 100 tests <i>Solutions de reconstitution du réactif-sonde, du réactif enzymatique et du réactif d'amplification</i>	—
Réactif TCR et réactif de sélection	CL0041 (100 bouchons) 501604 (100 bouchons)

Matériel optionnel

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

Procédure de test pour le Tigris DTS System

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

A. Préparation de la zone de travail

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

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

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

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

- i. Retirer le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, étape 6).
- j. Reboucher la bouteille.
 - Pour les bouteilles de 100 tests, noter les initiales de l'utilisateur et la date de reconstitution directement sur l'étiquette (voir Figure 3).
- k. Jeter le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, étape 8).

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

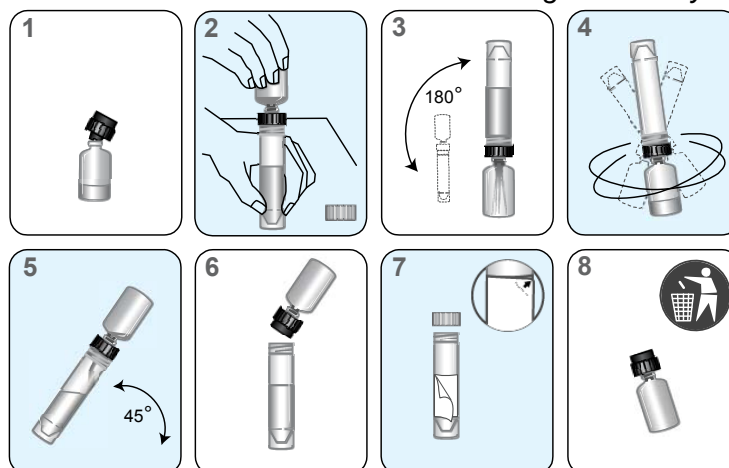


Figure 2. Procédure de reconstitution pour le Tigris DTS System

2. Préparer la solution de travail TCR GC (wTCR GC) pour le coffret de 100 tests.
 - a. Associer les flacons de TCR GC et de TCR-B appropriés.
 - b. Vérifier les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs appropriés du kit correspondent.
 - c. Ouvrir le flacon de TCR GC et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Retirer le bouchon du flacon de TCR-B et verser la totalité du contenu dans le flacon de TCR GC. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
 - e. Reboucher le flacon de TCR GC et agiter délicatement la solution pour mélanger le contenu. Éviter de faire de la mousse pendant cette étape.
 - f. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jeter le flacon de TCR-B et son bouchon.
3. Préparation du réactif de sélection
 - a. Vérifier le numéro de lot de la bouteille de réactif pour s'assurer qu'il correspond au numéro figurant sur la fiche de code-barres du lot de référence.
 - b. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

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

C. Préparation des réactifs préalablement reconstitués

1. Le réactif-sonde GC, le réactif d'amplification GC et le réactif enzymatique précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.

2. Si le réactif-sonde GC reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffer le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde GC peut être utilisé même s'il reste des précipités résiduels. Mélanger le réactif-sonde GC par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger sur le système.
3. Bien mélanger chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
4. Ne pas ajouter davantage de réactif dans les flacons de réactif. Le Tigris DTS System détecte et rejette les flacons dans lesquels plus de réactif a été ajouté.

D. Manipulation des échantillons

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

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

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

E. Préparation du système

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

Remarques concernant la procédure

A. Témoins

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

B. Température

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

C. Poudre sur les gants

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

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

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

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

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

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

Panther System

Les réactifs du test GC Aptima sont énumérés ci-dessous pour le Panther System. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériel fournis

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

Kit de test Aptima pour Neisseria gonorrhoeae, 100 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôles)
(N° de cat. 302927)

Test Aptima pour Neisseria gonorrhoeae Boîte réfrigérée (Boîte 1 de 2) (conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

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

Test Aptima pour Neisseria gonorrhoeae Boîte à température ambiante (Boîte 2 de 2) (à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	Solution de reconstitution de l'amplification GC Aptima <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 11,9 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique GC Aptima <i>Solution tamponnée de HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 6,3 mL
PR	Solution de reconstitution de sonde GC Aptima <i>Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.</i>	1 x 15,2 mL
S	Réactif de sélection GC Aptima <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 x 43,0 mL

Test Aptima pour Neisseria gonorrhoeae Boîte à température ambiante (Boîte 2 de 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
TCR	Réactif de capture de cible GC Aptima <i>Solution saline tamponnée contenant des oligomères de capture en phase solide.</i>	1 x 26,0 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des code-barres de lot de référence	1 fiche

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

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

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

Matériel requis mais vendu séparément

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

	<u>N° de référence</u>
Panther System	303095
Kit de liquides pour tests Aptima <i>(Solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima)</i>	303014 (1000 tests)
Kit Auto Detect Aptima	303013 (1000 tests)
Unités multi-tubes (MTU)	104772-02
Kit de sacs pour déchets Panther	902731
Couvre-déchets Panther	902714
Ou kit pour séries Panther <i>contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvre-déchets, des liquides pour tests et les solutions Auto Detect</i>	303096 (5000 tests)
Embouts, 1000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Kit de transfert d'échantillons Aptima <i>à utiliser avec les échantillons dans la solution PreservCyt</i>	301154C
Kit de collecte d'échantillons – écouvillon vaginal Aptima	301162

Kit de collecte d'échantillons – écouvillon unisexe Aptima pour échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Gants jetables	—
Solution étalon SysCheck	301078
Bouchons pénétrables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 100 tests	—
<i>Solutions de reconstitution du réactif-sonde, du réactif enzymatique et du réactif d'amplification</i>	<i>CL0041 (100 bouchons)</i>
<i>Réactif TCR et réactif de sélection</i>	<i>501604 (100 bouchons)</i>

Matériel optionnel

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

Procédure de test pour le Panther System

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

A. Préparation de la zone de travail

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

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

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

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification GC, le réactif enzymatique GC et le réactif-sonde GC, mélanger la solution de reconstitution aux bouteilles de réactif lyophilisé. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laisser leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.

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

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

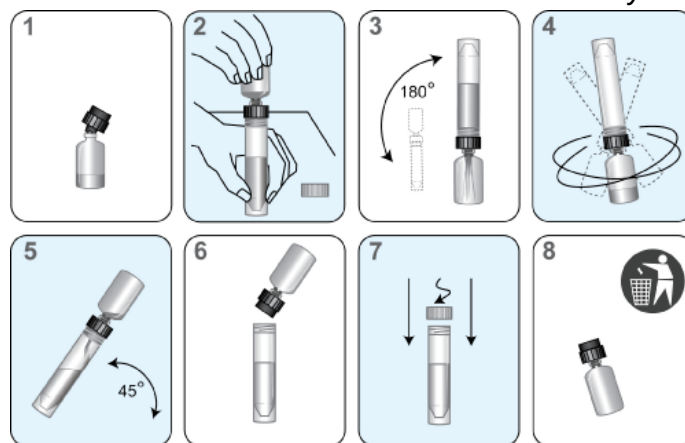


Figure 3. Procédure de reconstitution du Panther System

2. Préparer la solution de travail du réactif de capture de cible GC (working Target Capture Reagent, wTCR GC)
 - a. Associer les flacons de TCR GC et de TCR-B appropriés.
 - b. Vérifier les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs appropriés du kit correspondent.
 - c. Ouvrir le flacon de TCR GC et poser le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.

- d. Retirer le bouchon du flacon de TCR-B et verser la totalité du contenu dans le flacon de TCR GC. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
 - e. Reboucher le flacon de TCR GC et agiter délicatement la solution pour mélanger le contenu. Éviter de faire de la mousse pendant cette étape.
 - f. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jeter le flacon de TCR-B et son bouchon.
3. Préparation du réactif de sélection
- a. Vérifier le numéro de lot de la bouteille de réactif pour s'assurer qu'il correspond au numéro figurant sur la fiche de code-barres du lot de référence.
 - b. Noter les initiales de l'utilisateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

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

C. Préparation des réactifs préalablement reconstitués

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

D. Manipulation des échantillons

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

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

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

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

E. Préparation du système

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

Remarques concernant la procédure

A. Témoins

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

B. Température

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

C. Poudre sur les gants

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

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

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

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

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

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

Interprétation des tests – CQ/Résultats patients

A. Interprétation des tests

Les résultats des tests sont interprétés automatiquement par le logiciel de test Aptima en utilisant le protocole GC. Un résultat de test peut être négatif, équivoque, positif ou invalide tel que déterminé par le nombre total de RLU à l'étape de détection (voir ci-dessous). Un résultat de test peut être invalide si l'une des valeurs de RLU se situe en dehors des seuils normalement prévus. Si les premiers résultats de test sont équivoques ou invalides, le test doit être refait.

Interprétation des tests	Total de RLU (x 1 000)
Négatif	0* à < 50
Équivoque	50 à < 100
RLU faiblement positive ^{1,2,3}	100 à < 2 000
Positif ^{1,2}	2 000 à < 12 000
Invalide	0* ou > 12 000

* Un résultat de zéro (0 x 1 000) RLU sur le rapport de la série représente une valeur comprise entre zéro et 999 RLU. Les valeurs de RLU inférieures à 160 sur les DTS Systems, ou à 690 sur le Tigris DTS System ou sur le Panther System, seront signalées comme étant invalides.

¹ Conformément aux directives des CDC, « La réalisation de tests de routine supplémentaires doit être envisagée chez les personnes dont les tests de dépistage de CT ou de GC se sont révélés positifs lorsque les renseignements sur les facteurs de risque ou des relevés réalisés indiquent que la prévalence est faible, donnant lieu à une PPV plus basse (par ex., < 90 %). » Consulter les directives des CDC pour de plus amples renseignements sur les tests complémentaires et la prise en charge des patients après un test de dépistage positif (1).

² Se référer au Tableau 3 pour la répartition des résultats en valeurs de RLU. La valeur des RLU n'est pas représentative de la quantité d'organismes dans l'échantillon.

³ Dans la plage faiblement positive, les données indiquent que ces résultats positifs doivent être interprétés avec précaution, sachant qu'il est plus probable d'obtenir un résultat faussement positif que vraiment positif.

B. Résultats du contrôle de qualité et acceptabilité

Le contrôle négatif Aptima pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC » et le contrôle positif Aptima pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT » servent de contrôle pour les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test. Selon les recommandations ou les exigences en vigueur dans votre pays ou auprès des organismes d'accréditation, des témoins supplémentaires pour la lyse cellulaire et la stabilisation du RNA peuvent être requis. Le contrôle positif pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT » contient du rRNA de GC non infectieux. Si des témoins supplémentaires sont souhaités, ils peuvent être commandés sous forme de kit. La bonne préparation des échantillons se confirme visuellement par la présence d'un seul écouvillon de collecte Aptima dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon, par un volume final d'urine situé entre les lignes indicatrices noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine ou par l'absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons Aptima pour les échantillons de frottis en milieu liquide.

Les témoins positifs doivent produire les résultats de test suivants :

Témoin	Total de RLU (x 1 000)	Résultat GC
Contrôle positif CT / contrôle négatif GC	0* et < 50	Négatif
Contrôle positif GC / contrôle négatif CT	≥ 100 et < 12 000	Positif

* Un résultat de zéro (0 x 1 000) RLU sur le rapport de la série représente une valeur comprise entre zéro et 999 RLU. Les valeurs de RLU inférieures à 160 sur les DTS Systems, ou à 690 sur le Tigris DTS System ou sur le Panther System, seront signalées comme étant invalides.

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

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

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

C. Témoin de la préparation des échantillons (facultatif)

Le contrôle négatif Aptima pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC » et le contrôle positif Aptima pour GC, portant l'étiquette « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT » servent de contrôle pour les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test et doivent être inclus dans chaque série du test. Si on le souhaite, des témoins de la lyse cellulaire et de la stabilisation du RNA peuvent être testés conformément aux recommandations ou aux exigences des organismes d'accréditation concernés, ou encore selon les procédures particulières du laboratoire. Les échantillons positifs connus peuvent servir de témoins s'ils sont préparés et testés avec des échantillons inconnus. Les échantillons utilisés comme témoins de la préparation doivent être conservés, manipulés et testés conformément à la notice de test.

Les témoins de la préparation des échantillons doivent être interprétés de la même manière que celle recommandée pour les échantillons de patients. Voir *Interprétation des tests – CQ/Résultats patients, Résultats des tests de patients*.

D. Résultats des tests de patients

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

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

b. Résultats après nouvelle analyse

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

* Les résultats des échantillons à valeur de RLU faiblement positive sont inclus dans cette catégorie. Voir *Interprétation des tests – CQ/Résultats patients* ci-dessus.

Remarques

- Le premier résultat valide et non équivoque pour chaque analyte est celui qui doit être validé.
- Il est conseillé de considérer attentivement les données de performance pour interpréter les résultats du test GC Aptima pour les individus asymptomatiques ou tout individu venant d'une population à faible prévalence d'infection.
- Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'une infection à GC étant donné que la qualité des résultats dépend de la collecte des échantillons, de l'absence d'inhibiteurs, et de l'obtention d'une quantité de rRNA suffisante pour être détectée. Les résultats des tests peuvent être influencés par une collecte inadéquate des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique, une confusion entre échantillons ou un taux de cible inférieur au seuil de détection du test.
- Le test d'un échantillon endocervical est recommandé pour les patientes chez qui l'examen clinique indique une infection à Chlamydia ou gonococcique. Si un échantillon pour frottis cervical et un échantillon endocervical sur écouvillon sont collectés, l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt doit être collecté avant l'échantillon endocervical sur écouvillon.

Limites

- A. L'utilisation de ce test est réservée au personnel ayant été formé à la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. Les effets de l'utilisation de tampons hygiéniques, de toilettes vaginales, et l'impact des variables de la collecte des échantillons n'ont pas été évalués pour la détection de GC.
- C. La présence de mucus dans les échantillons endocervicaux n'interfère pas avec la détection de GC par le test GC Aptima. Toutefois, pour assurer un échantillonnage endocervical correct, l'excès de mucus doit être retiré.
- D. L'échantillonnage des échantillons d'urine, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt n'est pas destiné à remplacer les examens cervicaux et les échantillons endocervicaux dans le diagnostic des infections urogénitales chez la femme. Les patientes peuvent souffrir d'une cervicite, d'une urétrite, d'une infection urinaire ou d'une infection vaginale dues à d'autres causes ou à des infections parallèles par d'autres agents.
- E. Le test GC Aptima n'est pas prévu pour l'évaluation d'abus sexuels présumés ou à d'autres fins médico-légales. Pour les patients chez qui des résultats faussement positifs peuvent avoir un effet psychosocial néfaste, les CDC recommandent d'effectuer un nouveau test avec une autre méthode (1).
- F. La fiabilité des résultats dépend de la qualité de la collecte des échantillons. Étant donné que le système de transport utilisé pour ce test ne permet pas l'évaluation microscopique de la qualité des échantillons, il est nécessaire que les cliniciens soient formés aux techniques de collecte d'échantillons appropriées. Consulter la notice du kit de collecte d'échantillons Aptima correspondant.
- G. L'échec ou la réussite d'une thérapie ne peut être déterminé par le test GC Aptima étant donné que les acides nucléiques peuvent persister après une thérapie antimicrobienne appropriée.
- H. Les résultats du test GC Aptima doivent être interprétés en conjonction avec les autres données de laboratoire et cliniques dont dispose le clinicien.
- I. Un résultat négatif n'exclut pas une éventuelle infection étant donné que les résultats dépendent de la qualité de la collecte de l'échantillon. Les résultats des tests peuvent être influencés par une collecte inadéquate des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique, une confusion entre échantillons ou un taux de cible inférieur au seuil de détection du test.
- J. Le test GC Aptima fournit des résultats qualitatifs. Il n'est donc pas possible d'établir une corrélation entre l'intensité d'un signal de test positif et le nombre d'organismes dans un échantillon.
- K. Concernant les études cliniques des échantillons vaginaux, endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, et des échantillons d'urine, le rendement de la détection de GC est obtenu parmi des populations à prévalence d'infections élevée. Des résultats positifs dans des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant qu'il est plus probable d'obtenir un résultat faussement positif que vraiment positif.

- L. Concernant les études cliniques des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, la performance du test GC Aptima dans la détection de GC provient essentiellement de populations à faible prévalence d'infection. Néanmoins, des résultats positifs dans des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant qu'il est plus probable d'obtenir un résultat faussement positif que vraiment positif.
- M. Le rendement du kit de transfert d'échantillons Aptima n'a pas été évalué pour tester le même échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt avant et après le traitement du frottis avec le système ThinPrep.
- N. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt traités avec des instruments, autre que le processeur ThinPrep 2000, n'ont pas été évalués pour être utilisés avec les tests Aptima.
- O. Les échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal offrent une option de dépistage chez les femmes lorsqu'un examen pelvien n'est pas autrement indiqué.
- P. L'utilisation d'échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal est réservée aux centres de soins de santé où des conseils et du soutien sont offerts pour expliquer les procédures et les précautions d'emploi.
- Q. Le test GC Aptima n'a pas été validé pour être utilisé avec des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal à domicile.
- R. Le rendement des échantillons sur écouvillon vaginal n'a pas été évalué chez les femmes enceintes.
- S. Le rendement des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt n'a pas été évalué chez les adolescents de moins de 16 ans.
- T. Le test des échantillons urétraux sur écouvillon collectés sur des sujets masculins asymptomatiques n'est pas recommandé en raison du faible coefficient de prévision d'un résultat positif observé dans l'étude clinique.
- U. Le rendement du Tigris DTS System n'a pas été déterminé à une altitude supérieure à 2 240 mètres. Des vérifications volumétriques ainsi que des études spécifiques au test supplémentaires seront effectuées avant le processus d'installation et d'acceptation ou dans le cadre de ce processus, pour les laboratoires situés à une altitude supérieure à 2 240 mètres.
- V. Le rendement du Panther System n'a pas été déterminé à une altitude supérieure à 2 000 mètres.
- W. Il ne semble pas y avoir de dégradation des acides nucléiques dans la solution PreservCyt. Si un échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt contient une faible quantité de matériel cellulaire de GC, il peut se produire une distribution irrégulière de ce matériel cellulaire. De même, lorsqu'on le compare à l'échantillonnage direct avec le milieu de transport d'échantillons Aptima, le volume additionnel de la solution PreservCyt donne une dilution plus importante du matériel échantillonné. Ces facteurs peuvent influencer la capacité à détecter une petite quantité d'organismes dans le matériel collecté. Si les résultats négatifs de l'échantillon ne correspondent pas à l'impression clinique, il pourrait être nécessaire d'utiliser un nouvel échantillon.
- X. Les clients doivent valider indépendamment un processus de transfert LIS.

Résultats des études cliniques

Les caractéristiques de performance du test GC Aptima ont été établies au cours de deux investigations cliniques réalisées en Amérique du Nord. La première investigation clinique a établi la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test GC Aptima en utilisant des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal, et des échantillons d'urine masculins et féminins. Elle a aussi évalué la précision du test GC Aptima dans des conditions de réalisation conformes aux directives NCCLS (12). La seconde investigation clinique a établi la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test GC Aptima en utilisant le milieu de transport PreservCyt (composant du système ThinPrep 2000). Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été également évalués pour leur précision en laboratoire avec le test GC Aptima.

Valeurs attendues pour les DTS Systems

Prévalence

La prévalence d'infections à GC dans les populations de patients dépend des facteurs de risque tels que l'âge, le sexe, la présence de symptômes, le type de clinique et la méthode de test. Un résumé de la prévalence de GC en Amérique du Nord, par type d'échantillon et selon les déterminations du test GC Aptima, figure dans le Tableaux 1 et le 1a pour deux investigations cliniques. Consulter les sections *Étude clinique des échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux masculins sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon et d'urine* et *Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt* de la section *Rendement du test avec les DTS Systems* pour obtenir une description des caractéristiques de performance clinique des échantillons.

Tableau 1 : Prévalence de *N. gonorrhoeae* par site clinique et de manière globale selon les résultats obtenus avec le test GC Aptima

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

MS = Écouvillon urétral masculin; **MU** = Urine homme; **FS** = Écouvillon endocervical féminin; **FU** = Urine femme;
PVS = Écouvillon vaginal collecté par la patiente; **CVS** = Écouvillon vaginal collecté par un clinicien.

Tableau 1a : Prévalence de *N. gonorrhoeae* par site clinique et de manière globale selon les résultats obtenus avec le test GC Aptima en utilisant les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Site	% (nbre positifs/nbre testés)	
1	5,0	(5/100)
2	0,8	(1/124)
3	0,8	(4/475)
4	1,4	(4/287)
5	0,0	(0/297)
6	0,5	(2/364)
Tous	1,0	(16/1647)

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

Les valeurs prédictives positives et négatives (PPV et NPV) estimées pour les différents taux de prévalence hypothétiques en utilisant le test GC Aptima sont indiquées dans le Tableau 2. Ces calculs sont basés sur la prévalence hypothétique d'une sensibilité et d'une spécificité générales calculées d'après l'état d'infection des patients. Les sensibilité et spécificité générales à GC ont été respectivement de 97,6 % et de 99,3 % (Tableau 2). Les PPV et NPV réelles pour les échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins collectés par des cliniciens à l'aide d'un écouvillon, des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal, et des échantillons d'urine masculins et féminins sont indiquées dans le Tableau 6 pour chaque site clinique et de manière globale. Les PPV et NPV réelles des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt sont indiquées dans le Tableau 6a.

Tableau 2 : Valeurs prédictives positives et négatives des taux de prévalence hypothétiques en Amérique du Nord

Taux de prévalence hypothétique (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	97,6	99,3	58,7	100,0
2	97,6	99,3	74,1	100,0
5	97,6	99,3	88,1	99,9
10	97,6	99,3	94,0	99,7
15	97,6	99,3	96,1	99,6
20	97,6	99,3	97,2	99,4
25	97,6	99,3	97,9	99,2
30	97,6	99,3	98,4	99,0

Distribution des RLU dans le test GC Aptima

La Figure 4 présente la distribution des RLU pour le test GC Aptima pour les types d'échantillon suivants analysés lors de l'étude clinique : des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, et des échantillons d'urine masculins et féminins collectés par les patients provenant de patients symptomatiques; et des échantillons endocervicaux et vaginaux collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, des échantillons vaginaux collectés par les patientes et des échantillons d'urine masculins et féminins provenant de patients asymptomatiques. Le Tableau 3 résume la distribution des RLU pour la totalité des résultats positifs et la totalité des résultats négatifs, de même que les résultats faussement positifs et faussement négatifs concernant l'état d'infection des patients pour ces types d'échantillon. Parmi certains types d'échantillons, on note une tendance vers une proportion croissante de résultats vraiment positifs lorsque les valeurs de RLU augmentent.

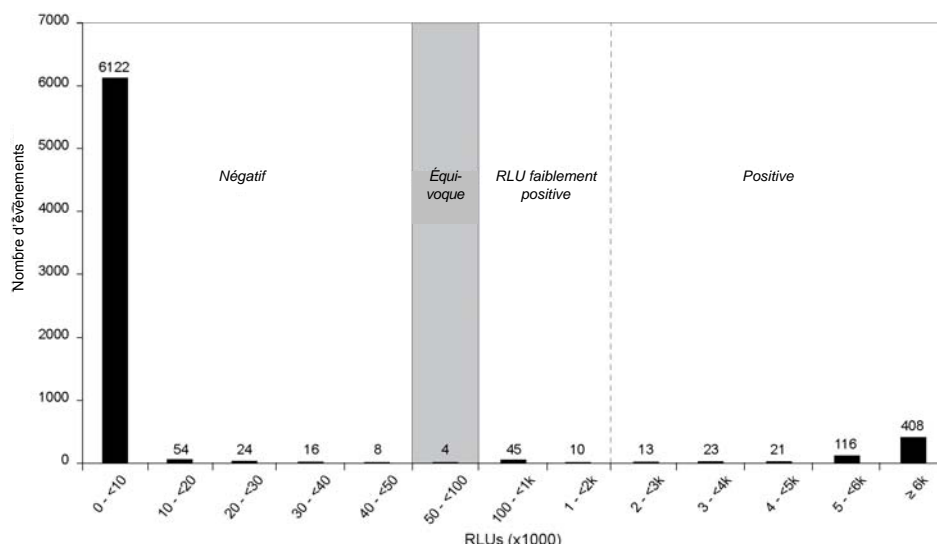


Figure 4. Fréquence de la distribution des RLU pour le test GC Aptima

Tableau 3 : Distribution des RLU dans le test GC Aptima

	RLU (x 1000)												
	0 - <10	10 - <20	20 - <30	30 - <40	40 - <50	50 - <100	100 - <1000	1000 - <2000	2000 - <3000	3000 - <4000	4000 - <5000	5000 - <6000	≥6000
Total de résultats positifs						-	45	10	13	23	21	116	408
Total de résultats faussement positifs						-	35	6	2	4	0	3	0
CVS						1	5	3	0	1	0	2	0
PVS						0	2	0	0	1	0	1	0
FS						2	12	1	0	0	0	0	0
MS						1	9	0	1	0	0	0	0
FU						0	2	0	0	1	0	0	0
MU						0	5	2	1	1	0	0	0
Total de résultats négatifs	6122	54	24	16	8	-							
Total de résultats faussement négatifs	7	2	1	2	1	-							
CVS	2	0	0	0	0	-							
PVS	0	0	0	0	0	-							
FS	0	0	0	1	1	-							
MS	0	1	0	0	0	-							
FU	3	1	1	1	0	-							
MU	2	0	0	0	0	-							

CVS = Écouvillon vaginal collecté par un clinicien; PVS = Échantillon vaginal collecté par la patiente à l'aide d'un écouvillon provenant de sujets asymptomatiques uniquement; FS = Écouvillon endocervical féminin; MS = Échantillon urétral masculin collecté à l'aide d'un écouvillon provenant de sujets symptomatiques uniquement; FU = Urine femme; MU = Urine homme. La colonne grisée indique une zone équivoque.

Rendement du test avec les DTS Systems

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

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

Des échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal et des échantillons d'urine masculins et féminins ont été collectés auprès de 2 787 sujets masculins et féminins symptomatiques ou asymptomatiques ayant consulté un gynécologue/obstétricien, une clinique de traitement des infections transmissibles sexuellement (ITS) ou un centre pour adolescents ou de planification familiale dans huit sites cliniques géographiquement distincts en Amérique du Nord. Les sujets ont été classés symptomatiques si des symptômes tels que des pertes, une dysurie ou des douleurs pelviennes ont été signalés par le sujet. Les sujets ont été classés asymptomatiques s'ils n'ont fait état d'aucun symptôme. Sur les 1 392 sujets asymptomatiques inscrits à l'étude, 2 avaient moins de 16 ans, 237 entre 16 et 20 ans, 423 entre 21 et 25 ans, et 730 avaient plus de 25 ans. Sur les 1 395 sujets symptomatiques participant à l'étude, 211 avaient entre 16 et 20 ans, 494 entre 21 et 25 ans, et 690 avaient plus de 25 ans.

Trois échantillons ont été collectés auprès de chacun des 1 322 sujets masculins admissibles. Cinq échantillons ont été collectés auprès de chacun des 1 465 sujets féminins admissibles. Chez les sujets masculins, deux écouvillons urétraux aléatoires ont été collectés, suivis d'un échantillon d'urine. Chez les sujets féminins, un échantillon d'urine a été collecté suivi par un échantillon collecté par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal, un échantillon collecté par un clinicien à l'aide d'un écouvillon vaginal, et deux échantillons endocervicaux aléatoires sur écouvillon. Les résultats du test GC et du test Aptima Combo 2 ont été générés pour les deux échantillons vaginaux sur écouvillon, un échantillon endocervical sur écouvillon, un échantillon urétral masculin sur écouvillon et une aliquote d'urine masculine et féminine. Les écouvillons endocervicaux féminins et urétraux masculins restants ainsi qu'une aliquote d'urine masculine et féminine ont été testés à l'aide d'un autre TAAN commercial. Les échantillons endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon et les échantillons d'urine masculins et féminins testés à l'aide du test Aptima Combo 2 et de l'autre TAAN commercial ont été utilisés comme TAAN de référence pour déterminer l'état d'infection de chaque sujet. L'analyse des échantillons a été effectuée soit sur le site d'inscription des sujets, soit dans un site d'analyse externe.

Tous les calculs de performance ont été basés sur le nombre total d'échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine masculins et féminins du test GC Aptima comparés à un algorithme de l'état d'infection des patients pour chaque sexe. Dans l'algorithme, la désignation d'un sujet comme étant infecté ou non infecté par GC était basée sur les résultats des échantillons sur écouvillon ou d'urine du test Aptima Combo 2 disponible dans le commerce ainsi que de l'autre TAAN disponible dans le commerce. Les sujets étaient considérés infectés par GC si deux des quatre échantillons sur écouvillon et d'urine étaient positifs avec le test Aptima Combo 2 et l'autre TAAN de référence (un échantillon testant positif dans chaque TAAN). Les sujets étaient considérés non infectés si moins de deux résultats de TAAN de référence étaient positifs. La culture n'a pas été utilisée comme test de référence.

Au total, 7 653 résultats de test GC Aptima ont été utilisés pour calculer la sensibilité et la spécificité. La sensibilité et la spécificité à GC par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées dans le Tableau 4. Le Tableau 6 indique la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test GC Aptima selon l'état d'infection des patients pour chaque site clinique et de manière globale. Tableaux 7a - 7e résument le nombre des résultats de sujets symptomatiques et asymptomatiques désignés comme infectés ou non infectés par GC, selon l'algorithme de l'état d'infection des patients.

Sur les 2 787 sujets participant à l'étude, 15 d'entre eux avaient un état d'infection à GC inconnu. Les sujets ont été désignés comme ayant un état d'infection inconnu si des résultats incomplets empêchaient de déterminer de manière concluante leur état d'infection. Les résultats obtenus auprès de ces sujets n'ont pas été inclus dans les calculs de rendement. Sur les 7 704 résultats de test GC Aptima, 22 échantillons (0,29 %) avaient initialement donné des résultats de test invalides ou équivoques. Après avoir testé de nouveau ces échantillons, 4 d'entre eux sont restés équivoques et ont été exclus des analyses. Les 18 échantillons restants ont produit des résultats de test valides après avoir été de nouveau testés et ont donc été utilisés dans les calculs de la performance clinique.

Tableau 4 : Sensibilité et spécificité du test GC Aptima selon l'état d'infection des patients par état des symptômes et dans l'ensemble pour les échantillons urétraux masculins sur écouvillon, les échantillons d'urine masculins, les échantillons endocervicaux féminins sur écouvillon, les échantillons d'urine féminins, les échantillons vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon par des patientes asymptomatiques et les échantillons vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon par des cliniciens

Échantillon	État des symptômes	N	TP	FP	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	
Homme	Écouvillon	Symptomatique	575	171	10 ^a	393	1	99,4 (96,8 - 100)	97,5 (95,5 - 98,8)
		Asymptomatique	635	20	5 ^f	609	1	95,2 (76,2 - 99,9)	99,2 (98,1 - 99,7)
	Urine	Symptomatique	576	171	4 ^b	400	1	99,4 (96,8 - 100)	99,0 (97,5 - 99,7)
		Asymptomatique	745	9	5 ^c	730	1	90,0 (55,5 - 99,7)	99,3 (98,4 - 99,8)
	Tous	1321	180	9 ^d	1130	2	98,9 (96,1 - 99,9)	99,2 (98,5 - 99,6)	
Femme	Écouvillon	Symptomatique	805	52	8 ^e	744	1	98,1 (89,9 - 100)	98,9 (97,9 - 99,5)
		Asymptomatique	635	20	5 ^f	609	1	95,2 (76,2 - 99,9)	99,2 (98,1 - 99,7)
	Urine	Symptomatique	810	48	2 ^h	755	5	90,6 (79,3 - 96,9)	99,7 (99,0 - 100)
		Asymptomatique	639	21	1 ⁱ	616	1	95,5 (77,2 - 99,9)	99,8 (99,1 - 100)
	Tous	1449	69	3 ^j	1371	6	92,0 (83,4 - 97,0)	99,8 (99,4 - 100)	
Collecté par la patiente	Écouvillon	Asymptomatique	629	21	4 ^k	604	0	100 (83,9 - 100)	99,3 (98,3 - 99,8)
Collecté par un clinicien	Écouvillon	Symptomatique	809	52	7 ^l	749	1	98,1 (89,9 - 100)	99,1 (98,1 - 99,6)
		Asymptomatique	637	21	4 ^m	611	1	95,5 (77,2 - 99,9)	99,3 (98,3 - 99,8)
		Tous	1446	73	11 ⁿ	1360	2	97,3 (90,7 - 99,7)	99,2 (98,6 - 99,6)

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

Résultats du test GC Aptima Combo 2 : nbre résultats positifs / nbre d'échantillons testés a : 2/10 b : 1/4 c : 1/5 d : 2/9 e : 5/8 f : 2/5 g : 7/13 h : 1/2 i : 1/1 j : 2/3 k : 3/4 l : 6/7 m : 3/4 n : 9/11.

Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Une étude clinique prospective multicentrique a été effectuée pour évaluer l'utilisation du milieu de transport PreservCyt (un composant du système ThinPrep 2000) comme milieu de remplacement pour les échantillons gynécologiques dans la détection de *N. gonorrhoeae* par le test GC Aptima. Mille six-cent quarante-sept (1 647) femmes symptomatiques et asymptomatiques se rendant chez des gynécologues/obstétriciens, des dispensaires et des cliniques pour femmes et pour ITS ont été évaluées lors de l'étude clinique. Sur ces sujets, 1 288 étaient des sujets asymptomatiques et 359 des sujets symptomatiques (Tableau 7e). Les sujets qui ont été inscrits provenaient de sites où la prévalence de GC s'échelonnait entre 0,0 % et 5,0 % (Tableau 6a).

Deux échantillons ont été collectés pour chaque sujet éligible : un échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt et un échantillon endocervical sur écouvillon. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été collectés au moyen d'une spatule/cytobrosse ou d'un dispositif d'échantillonnage cervical en brosse de type balai. La distribution des dispositifs d'échantillonnage cervical est résumée au Tableau 5 par site de collecte d'échantillons et de manière globale.

Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été traités conformément au Manuel de l'utilisateur du processeur ThinPrep 2000 et à la notice du test du kit de transfert d'échantillons Aptima. Après traitement de l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt avec le processus ThinPrep 2000, l'échantillon a été transféré dans le kit de transfert d'échantillons Aptima avec le test GC Aptima.

La sensibilité et la spécificité du test GC Aptima avec les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été calculées en comparant les résultats à l'état d'infection des patients. L'algorithme comprenait les résultats du test Aptima Combo 2 et du test GC Aptima pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon. Les deux TAAN de référence devaient être positifs pour établir l'infection d'une patiente. Au moins un TAAN de référence devait être négatif pour établir que la patiente n'était pas infectée. Le résultat équivoque obtenu avec un TAAN de référence a été considéré discordant avec le test d'investigation dans le calcul de la performance, et l'état d'infection du patient a donc été classé comme non infecté (n=1). Le Tableau 7e résume la fréquence des résultats du test pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon testés avec le test Aptima Combo 2 et le test GC Aptima.

Le Tableau 5a indique les sensibilités et spécificités du test GC Aptima par état des symptômes et de manière globale. La sensibilité générale était de 92,3 % (12/13). Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, les sensibilités étaient respectivement de 100 % (7/7) et 83,3 % (5/6). La spécificité générale était de 99,8 % (1630/1634). Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, les spécificités étaient respectivement de 99,4 % (350/352) et 99,8 % (1280/1282).

Le Tableau 6a indique les sensibilités et spécificités du test GC Aptima par site de collecte d'échantillons et de manière globale. Les sensibilités s'échelonnaient de 80,0 % à 100 %. Les spécificités s'échelonnaient de 99,0 % à 100 %.

Tableau 5 : Distribution du dispositif d'échantillonnage cervical utilisé pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

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

Tableau 5a : Sensibilité et spécificité du test GC Aptima comparées à l'état d'infection des patients par état des symptômes et dans l'ensemble pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

État des symptômes	Résultats GC Aptima de la solution PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilité (%) (IC à 95 %)	Spécificité (%) (IC à 95 %)
Symptomatique	Positif	7	0	0	2	100 (7/7) (59,0 - 100)	99,4 (350/352) (98,0 - 99,9)
	Négatif	0	0	0	350		
	Total	7	0	0	352		
Asymptomatique	Positif	5	0	1 ¹	1	83,3 (5/6) (35,9 - 99,6)	99,8 (1280/1282) (99,4 - 100)
	Négatif	1	0	5	1275		
	Total	6	0	6	1276		
Tous	Positif	12	0	1	3	92,3 (12/13) (64,0 - 99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4 - 99,9)
	Négatif	1	0	5	1625		
	Total	13	0	6	1628		

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC Aptima.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC Aptima.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC Aptima.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC Aptima.

¹ Un échantillon a donné un résultat discordant : Résultat équivoque d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC Aptima.

Tableau 6 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du test GC Aptima selon l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale pour les échantillons urétraux masculins sur écouvillon, les échantillons d'urine masculins, les échantillons endocervicaux féminins sur écouvillon, les échantillons d'urine féminins, les échantillons vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon par des patientes asymptomatiques et les échantillons vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon par des cliniciens

Échantillon	Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)	
Écouvillon	1	145	49	0	96	0	33,8	100 (92,7 - 100)	100 (96,2 - 100)	100	100	
	2	177	66	8	102	1	37,9	98,5 (92,0 - 100)	92,7 (86,2 - 96,8)	89,2	99,0	
	3	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	
	4	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	
	5	49	7	1	41	0	14,3	100 (59,0 - 100)	97,6 (87,4 - 99,9)	87,5	100	
	6	150	37	1	112	0	24,7	100 (90,5 - 100)	99,1 (95,2 - 100)	97,4	100	
	7	54	12	0	42	0	22,2	100 (73,5 - 100)	100 (91,6 - 100)	100	100	
	8	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	
	Tous	575	171	10	393	1	29,9	99,4 (96,8 - 100)	97,5 (95,5 - 98,8)	94,5	99,7	
Homme	Urine	1	252	53	1	198	0	21,0	100 (93,3 - 100)	99,5 (97,2 - 100)	98,1	100
		2	353	68	3	280	2	19,8	97,1 (90,1 - 99,7)	98,9 (96,9 - 99,8)	95,8	99,3
		3	4	0	0	4	0	0,0	S.O.	100 (39,8 - 100)	S.O.	100
		4	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
		5	200	8	3	189	0	4,0	100 (63,1 - 100)	98,4 (95,5 - 99,7)	72,7	100
		6	305	39	2	264	0	12,8	100 (91,0 - 100)	99,2 (97,3 - 99,9)	95,1	100
		7	207	12	0	195	0	5,8	100 (73,5 - 100)	100 (98,1 - 100)	100	100
		8	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
		Tous	1321	180	9	1130	2	13,8	98,9 (96,1 - 99,9)	99,2 (98,5 - 99,6)	95,2	99,8
Femme	Écouvillon	1	226	12	2	212	0	5,3	100 (73,5 - 100)	99,1 (96,7 - 99,9)	85,7	100
		2	197	29	3	164	1	15,2	96,7 (82,8 - 99,9)	98,2 (94,8 - 99,6)	90,6	99,4
		3	114	4	1	109	0	3,5	100 (39,8 - 100)	99,1 (95,0 - 100)	80,0	100
		4	260	5	1	254	0	1,9	100 (47,8 - 100)	99,6 (97,8 - 100)	83,3	100
		5	199	2	1	196	0	1,0	100 (15,8 - 100)	99,5 (97,2 - 100)	66,7	100
		6	294	19	5	269	1	6,8	95,0 (75,1 - 99,9)	98,2 (95,8 - 99,4)	79,2	99,6
		7	102	0	0	102	0	0,0	S.O.	100 (96,4 - 100)	S.O.	100
		8	48	1	0	47	0	2,1	100 (2,5 - 100)	100 (92,5 - 100)	100	100
		Tous	1440	72	13	1353	2	5,1	97,3 (90,6 - 99,7)	99,0 (98,4 - 99,5)	84,7	99,9
Femme	Urine	1	227	11	2	213	1	5,3	91,7 (61,5 - 99,8)	99,1 (96,7 - 99,9)	84,6	99,5
		2	198	30	0	167	1	15,7	96,8 (83,3 - 99,9)	100 (97,8 - 100)	100	99,4
		3	113	4	0	109	0	3,5	100 (39,8 - 100)	100 (96,7 - 100)	100	100
		4	265	5	0	260	0	1,9	100 (47,8 - 100)	100 (98,6 - 100)	100	100
		5	199	2	0	197	0	1,0	100 (15,8 - 100)	100 (98,1 - 100)	100	100
		6	296	16	1	275	4	6,8	80,0 (56,3 - 94,3)	99,6 (98,0 - 100)	94,1	98,6
		7	102	0	0	102	0	0,0	S.O.	100 (96,4 - 100)	S.O.	100
		8	49	1	0	48	0	2,0	100 (2,5 - 100)	100 (92,6 - 100)	100	100
		Tous	1449	69	3	1371	6	5,2	92,0 (83,4 - 97,0)	99,8 (99,4 - 100)	95,8	99,6

Tableau 6 : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du test GC Aptima selon l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale pour les échantillons urétraux masculins sur écouvillon, les échantillons d'urine masculins, les échantillons endocervicaux féminins sur écouvillon, les échantillons d'urine féminins, les échantillons vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon par des patientes asymptomatiques et les échantillons vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon par des cliniciens (suite)

Échantillon		Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)		Spécificité (IC à 95 %)		PPV (%)	NPV (%)
Collecté par la patiente	Écouvillon (Asymptomatique)	1	70	5	1	64	0	7,1	100	(47,8 - 100)	98,5	(91,7 - 100)	83,3	100
		2	46	7	1	38	0	15,2	100	(59,0 - 100)	97,4	(86,5 - 99,9)	87,5	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100	(15,8 - 100)	100	(91,8 - 100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100	(2,5 - 100)	100	(97,6 - 100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100	(2,5 - 100)	100	(97,2 - 100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100	(47,8 - 100)	97,1	(90,1 - 99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0	S.O.	100	(94,7 - 100)	S.O.	100	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	S.O.	100	(91,8 - 100)	S.O.	100	100
		Tous	629	21	4	604	0	3,3	100	(83,9 - 100)	99,3	(98,3 - 99,8)	84,0	100
Collecté par un clinicien	Écouvillon	1	227	12	2	213	0	5,3	100	(73,5 - 100)	99,1	(96,7 - 99,9)	85,7	100
		2	197	30	3	163	1	15,7	96,8	(83,3 - 99,9)	98,2	(94,8 - 99,6)	90,9	99,4
		3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8 - 100)	100	(96,7 - 100)	100	100
		4	263	5	3	255	0	1,9	100	(47,8 - 100)	98,8	(96,6 - 99,8)	62,5	100
		5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8 - 100)	100	(98,1 - 100)	100	100
		6	295	19	3	272	1	6,8	95,0	(75,1 - 99,9)	98,9	(96,8 - 99,8)	86,4	99,6
		7	102	0	0	102	0	0,0	S.O.	100	(96,4 - 100)	S.O.	100	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100	(2,5 - 100)	100	(92,7 - 100)	100	100
		Tous	1446	73	11	1360	2	5,2	97,3	(90,7 - 99,7)	99,2	(98,6 - 99,6)	86,9	99,9

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

Tableau 6a : Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives du test GC Aptima selon l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Site	GC Aptima PreservCyt Résultat de la solution	+/+	+/-	-/+	-/-	Prév. (%)	Sensibilité (%) (IC à 95 %)	Spécificité (%) (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)
1	Positif	5	0	0	0	5,0	100 (5/5) (47,8 - 100)	100 (95/95) (96,2 - 100)	100	100
	Négatif	0	0	0	95					
	Total	5	0	0	95					
2	Positif	1	0	0	0	0,8	100 (1/1) (2,5 - 100)	100 (123/123) (97,0 - 100)	100	100
	Négatif	0	0	0	123					
	Total	1	0	0	123					
3	Positif	4	0	0	0	1,1	80,0 (4/5) (28,4 - 99,5)	100 (470/470) (99,2 - 100)	100	99,8
	Négatif	1	0	0	470					
	Total	5	0	0	470					
4	Positif	1	0	0	3	0,3	100 (1/1) (2,5 - 100)	99,0 (283/286) (97,0 - 99,8)	25,0	100
	Négatif	0	0	3	280					
	Total	1	0	3	283					
5	Positif	0	0	0	0	0,0	S.O.	100 (297/297) (98,8 - 100)	S.O.	100
	Négatif	0	0	0	297					
	Total	0	0	0	297					
6	Positif	1	0	1 ¹	0	0,3	100 (1/1) (2,5 - 100)	99,7 (362/363) (98,5 - 100)	50,0	100
	Négatif	0	0	2	360					
	Total	1	0	3	360					
TOUS	Positif	12	0	1	3	0,8	92,3 (12/13) (64,0 - 99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4 - 99,9)	75,0	99,9
	Négatif	1	0	5	1625					
	Total	13	0	6	1628					

S.O. = sans objet.

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC Aptima.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC Aptima.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC Aptima.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test Aptima Combo 2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC Aptima.

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

Tableau 7a : Résultats des échantillons urétraux masculins collectés à l'aide d'un écouvillon chez des sujets symptomatiques infectés ou non infectés par *N. gonorrhoeae* selon l'état d'infection des patients

État d'infection de la patiente	TAAN 1 (Test Aptima Combo 2)		TAAN 2		Test GC Aptima	Total
	MS	MU	MS	MU	MS	
Infectée	+	+	+	+	+	164
Infectée	+	+	+	+	-	1
Infectée	+	+	+	-	+	3
Infectée	+	+	=	+	+	1
Infectée	+	-	+	+	+	2
Infectée	+	-	+	-	+	1
Non infecté	+	-	-	-	+	2
Non infecté	+	-	-	-	-	1
Non infecté	-	+	-	-	+	1
Non infecté	-	-	+	-	-	1
Non infecté	-	-	-	+	-	2
Non infecté	-	-	-	-	+	3
Non infecté	-	-	-	-	+	2
Non infecté	-	-	-	-	-	386
Non infecté	-	-	-	-	=	1
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	1
Non infecté	-	-	-	=	-	1
Non infecté	-	-	=	-	-	1
Non infecté	=	-	-	-	+	2
Total						576

S.O. = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après une nouvelle analyse. MS = Échantillon urétral masculin collecté à l'aide d'un écouvillon chez un sujet symptomatique; MU = Urine homme.

Tableau 7b : Résultats des échantillons d'urine masculins collectés chez des sujets infectés ou non infectés par *N. gonorrhoeae* selon l'état d'infection des patients

État d'infection de la patiente	TAAN 1 (Test Aptima Combo 2)		TAAN 2		Test GC Aptima	État des symptômes		Total
	MS	MU	MS	MU	MU	Sympt.	Asympt.	
Infectée	+	+	+	+	+	164	8	172
Infectée	+	+	+	+	+	1	0	1
Infectée	+	+	+	-	+	3	1	4
Infectée	+	+	=	+	+	1	0	1
Infectée	+	-	+	+	+	2	0	2
Infectée	+	-	+	-	-	1	1	2
Non infecté	+	+	-	-	+	0	1	1
Non infecté	+	-	-	-	-	2	13	15
Non infecté	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	+	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	-	0	1	1
Non infecté	-	-	+	-	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	+	-	2	2	4
Non infecté	-	-	-	-	+	3	1	4
Non infecté	-	-	-	-	-	2	1	3
Non infecté	-	-	-	-	+	0	3	3
Non infecté	-	-	-	-	-	386	691	1077
Non infecté	-	-	-	-	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	1	4	5
Non infecté	-	-	-	=	-	1	4	5
Non infecté	-	-	=	-	-	1	1	2
Non infecté	-	=	-	-	-	0	1	1
Non infecté	S.O.	-	-	-	-	0	1	1
Non infecté	=	-	-	-	-	2	6	8
Non infecté	=	-	-	-	-	0	2	2
Total						576	745	1321

Sympt. = Symptomatique; **Asympt.** = Asymptomatique. **S.O.** = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après une nouvelle analyse. **MS** = Écouvillon urétral masculin; **MU** = Urine homme.

Tableau 7c : Résultats des échantillons endocervicaux féminins sur écouvillon et des échantillons d'urine féminins chez des sujets infectés ou non infectés par *N. gonorrhoeae* selon l'état d'infection des patients

État d'infection de la patiente	TAAN 1 (Test Aptima Combo 2)		TAAN 2		Test GC Aptima		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	FS	FU	Sympt.	Asympt.	
Infectée	+	+	+	+	+	+	43	16	59
Infectée	+	+	+	+	+	-	2	0	2
Infectée	+	+	+	-	+	+	2	1	3
Infectée	+	+	+	-	+	-	0	1	1
Infectée	+	+	+	S.O.	+	+	1	0	1
Infectée	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infectée	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infectée	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infectée	+	-	+	-	+	+	0	1	1
Infectée	+	-	+	-	+	-	2	0	2
Infectée	-	+	+	+	-	+	1	0	1
Infectée	-	+	-	+	-	+	0	1	1
Infectée	-	+	-	+	=	+	0	1	1
Infectée	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	+	-	4	1	5
Non infecté	+	-	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infecté	-	-	+	-	+	-	1	0	1
Non infecté	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Non infecté	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Non infecté	-	-	-	-	+	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	-	-	+	1	0	1
Non infecté	-	-	-	-	-	-	718	589	1307
Non infecté	-	-	-	-	=	-	1	0	1
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	2	3	5
Non infecté	-	-	-	=	-	-	11	11	22
Non infecté	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	S.O.	1	1	2
Non infecté	S.O.	-	-	-	S.O.	-	5	4	9
Non infecté	=	-	-	-	+	-	1	1	2
Total							811	640	1451

Sympt. = Symptomatique; **Asympt.** = Asymptomatique. **S.O.** = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après une nouvelle analyse. **FS** = Écouvillon endocervical féminin; **FU** = Urine féminine.

Tableau 7d : Résultats des échantillons vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon chez des patientes infectées ou non infectées par *N. gonorrhoeae* selon l'état d'infection des patientes

État d'infection de la patiente	TAAN 1 (Test Aptima Combo 2)		TAAN 2		Test GC Aptima		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infectée	+	+	+	+	+	+	43	15	58
Infectée	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infectée	+	+	+	+	-	-	1	0	1
Infectée	+	+	+	+	S.O.	+	0	1	1
Infectée	+	+	+	-	+	+	2	2	4
Infectée	+	+	+	S.O.	+	+	1	0	1
Infectée	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infectée	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infectée	+	-	+	+	+	+	1	0	1
Infectée	+	-	+	-	+	+	2	1	3
Infectée	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infectée	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infectée	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infectée	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Non infectée	+	-	-	-	-	-	5	1	6
Non infectée	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Non infectée	-	-	+	-	+	+	1	0	1
Non infectée	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Non infectée	-	-	-	+	+	+	0	1	1
Non infectée	-	-	-	+	-	-	2	1	3
Non infectée	-	-	-	-	+	+	2	1	3
Non infectée	-	-	-	-	+	-	3	1	4
Non infectée	-	-	-	-	-	+	3	1	4
Non infectée	-	-	-	-	-	-	696	577	1273
Non infectée	-	-	-	-	-	S.O.	0	1	1
Non infectée	-	-	-	-	-	=	0	1	1
Non infectée	-	-	-	-	S.O.	-	16	9	25
Non infectée	-	-	-	-	S.O.	S.O.	1	0	1
Non infectée	-	-	-	S.O.	-	-	2	2	4
Non infectée	-	-	-	S.O.	S.O.	-	0	1	1
Non infectée	-	-	-	=	-	-	11	10	21
Non infectée	-	-	-	=	-	S.O.	0	1	1
Non infectée	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Non infectée	-	S.O.	-	-	-	-	0	1	1
Non infectée	-	S.O.	-	-	S.O.	S.O.	1	0	1
Non infectée	S.O.	-	-	-	-	-	5	4	9
Non infectée	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Total							811	640	1451

Sympt. = Symptomatique; **Asympt.** = Asymptomatique. **S.O.** = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole « égal » (=) indique des résultats équivoques ou indéterminés après une nouvelle analyse. **FS** = Écouvillon endocervical féminin; **FU** = Urine femme; **PVS** = Écouvillon vaginal collecté par la patiente; **CVS** = Écouvillon vaginal collecté par un clinicien.

Tableau 7e : Résultats de l'étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt provenant de patientes infectées par *N. gonorrhoeae*

État d'infection de la patiente	Écouvillon endocervical		État des symptômes	
	Test Aptima Combo 2	Test GC Aptima	Symptomatique	Asymptomatique
Infectée	Positif	Positif	7	6
Non infectée	Négatif	Négatif	352	1276
Non infectée	Négatif	Positif	0	5
Non infectée	Équivoque	Positif	0	1
Total			359	1288

Distribution des RLU des témoins Aptima

La distribution des RLU pour le Contrôle positif GC / Contrôle négatif CT Aptima et le Contrôle positif CT / Contrôle négatif GC Aptima pour toutes les séries de test GC Aptima effectuées lors des études d'échantillons cliniques est présentée dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Distribution des RLU des témoins Aptima lors des études cliniques d'échantillons comprenant les études des échantillons endocervicaux ou vaginaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Témoin	Statistiques	RLU (x 1000)	
		Étude clinique des échantillons sur écouvillon et d'urine	Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt
Contrôle positif GC / Contrôle négatif, CT	N	193	218
	Moyenne	5048	4561
	Écart-type	1071	1295
	Maximum	6765	6791
	75° centile	5763	5450
	Médiane	5175	4859
	25° centile	4645	3804
	Minimum	229	158
Témoin positif CT / Témoin négatif, GC	N	193	218
	Moyenne	2,15	2,60
	Écart-type	2,20	2,80
	Maximum	20	29
	75° centile	2	3
	Médiane	2	2
	25° centile	1	2
	Minimum	0	1

Étude de la précision

L'étude de précision (c-à-d. reproductibilité) du test GC Aptima a été évaluée dans deux sites cliniques externes et chez Hologic. L'étude de précision du test GC Aptima a été évaluée sur trois lots de kit de test GC Aptima, trois sites d'étude, six utilisateurs et 108 séries de test GC Aptima. Deux utilisateurs dans chacun des trois sites de test ont effectué un total de six séries de test GC Aptima par lot de kit pour un total de 36 séries par lot de kit. Chaque série était composée d'un panel de précision de 12 membres contenant de 0 à 2 433 fg/test de rRNA de GC. La reproductibilité du test a été établie en utilisant un milieu de transport des écouvillons enrichi de rRNA. La reproductibilité lors des tests d'échantillons sur écouvillon et urinaires contenant l'organisme cible n'a pas été déterminée. Le Tableau 9 présente les données de précision RLU en termes de moyenne, d'écart-type, de coefficient de variation (CV) et de pourcentage d'accord avec les résultats attendus des calculs de variabilité entre sites, entre utilisateurs, entre lots, entre séries et intra-série.

Tableau 9 : Données de précision du test GC Aptima en utilisant un panel de précision de 12 membres contenant de 0 à 2 433 fg/test de rRNA de GC

Concentration	N	RLU moyenne (x1000)	% Concordant	Intra-série		D'un site à l'autre		D'un lot à l'autre		D'un utilisateur à l'autre		D'une série à l'autre	
				SD RLU (x 1000)	CV (%)	SD RLU (x 1000)	CV (%)	SD RLU (x 1000)	CV (%)	SD RLU (x 1000)	CV (%)		
Nég. (0 fg/mL)	540	11,7	99,8	233,3	S.O.	0	S.O.	0	S.O.	4,3	S.O.	0	S.O.
Faible (608-625 fg/mL)	324	5574,4	99,7	617,2	11,1	189,2	3,4	518,1	9,3	311,3	5,6	527,4	9,5
Moy. (6 082 fg/mL)	108	6502,6	100	138,8	2,1	0	0,0	481,9	7,4	514,8	7,9	579,4	8,9
Élevé (12 500 fg/mL)	324	6786,0	100	270,3	4,0	0	0,0	581,3	8,6	410,7	6,1	647,1	9,5

SD = Écart-type; **CV (%)** = Pourcentage du CV; **% Concord.** = Pourcentage d'accord. **S.O.** = ne s'applique pas pour un analyte négatif.

Remarque : La variabilité découlant de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Si tel est le cas, la variabilité mesurée avec SD et %CV est fixée à zéro (12).

La précision dans un même laboratoire pour un échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt avec le test GC Aptima a été déterminée en ensemençant les flacons de PreservCyt avec 20 CFU de GC par flacon (0,1 CFU par réaction) et 100 CFU de GC par flacon (0,5 CFU par réaction). Les flacons contenant 10 000 CFU de GC par flacon (50 CFU par réaction) et les flacons de PreservCyt non ensemençés ont été testés comme contrôles positifs et négatifs. Dix flacons ensemençés à différents taux de CFU et dix flacons non ensemençés ont été divisés entre deux utilisateurs. Les utilisateurs ont vortexé les flacons, puis transféré 14 aliquotes (de 1,0 mL chacune) par flacon dans 14 tubes de transfert Aptima, conformément à la notice du kit de transfert d'échantillons Aptima. Les utilisateurs ne connaissaient pas le titre des échantillons. Chacun des échantillons frottis-STM obtenu a été testé une fois avec le test GC Aptima. Au total, cinq séries ont été effectuées sur une période de cinq jours et 140 résultats ont été obtenus pour les taux de CFU de 0,1, 0,5 et 50. Cent trente-six résultats étaient valides et quatre étaient invalides pour le panel de contrôle négatif. Les résultats invalides étaient dus à une mauvaise mise en place d'une TTU dans le Leader HC+. Les résultats sont résumés au Tableau 10.

Tableau 10 : Données de précision du test GC Aptima dans un même laboratoire pour PreservCyt en utilisant un panel de précision de 4 membres contenant un taux de cellules de GC entre 0 et 500 CFU/mL

Membre du panel	CFU/mL PreservCyt	CFU/série	n	Concordant	% Concord.	RLU moyenne (x1000)	Pour un même utilisateur		D'un jour à l'autre		D'un utilisateur à l'autre		Total	
							SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
A	1	0,1	140	39	27,9	313,7	758,3	241,7	132,5	42,2	0,0	0,0	769,8	245,4
B	5	0,5	140	113	80,7	1211,1	1031,3	85,2	169,8	14,0	150,4	12,4	1056,0	87,2
C	500	50	140	140	100	5636,8	220,7	3,9	135,7	2,4	0,0	0,0	259,1	4,6
D	0	0	136*	136	100	1,2	0,5	S.O.	0	S.O.	0,3	S.O.	0,6	S.O.

* Il y a eu quatre résultats invalides dus à une mauvaise mise en place d'une TTU dans le Leader HC+.

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Si tel est le cas, la variabilité mesurée avec SD et %CV est fixée à zéro (12). S.O. = sans objet pour les membres négatifs du panel. Utilisateur = Série. Les échantillons offrant des résultats discordants ont été inclus dans l'analyse de variabilité du signal.

Rendement analytique des DTS Systems

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

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

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique à *N. gonorrhoeae* (limite de détection) a été déterminée en comparant directement les dilutions de 51 isolats cliniques différents dans des cultures et avec le test GC Aptima. La sensibilité analytique revendiquée pour le test est de 50 CFU/test (362 CFU/écouvillon, 250 CFU/mL d'urine et 487,5 CFU/mL de frottis en milieu liquide PreservCyt).

Spécificité analytique

Au total, 154 isolats de culture ont été évalués à l'aide du test GC Aptima. Ces isolats comprenaient 86 organismes pouvant être isolés du tractus urogénital et 68 organismes supplémentaires qui représentent un échantillon phylogénétique d'organismes représentatif. Les organismes testés comprenaient des bactéries, des champignons, des levures, des parasites et des virus. Tous les organismes, à l'exception de *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* et les virus ont été testés à $1,0 \times 10^6$ cellules/test dans le milieu de transport d'urine KOVA-Trol et 60 organismes l'ont été dans le milieu de transport d'écouvillons. Les organismes Chlamydia et Neisseria ont été testés dans le milieu PreservCyt. *C. psittaci* VR601 a été testé à $8,0 \times 10^4$ cellules/test et *C. psittaci* VR125 à $1,0 \times 10^5$ cellules/test. *C. pneumoniae* a été testé à $4,0 \times 10^3$ cellules/test et *U. urealyticum* à $6,7 \times 10^6$ cellules/test. Les virus ont été testés comme suit : (a) virus de l'herpès simplex I : $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (b) virus de l'herpès simplex II : $6,0 \times 10^4$ TCID₅₀/test, (c) papillomavirus 16 : $2,9 \times 10^6$ copies de DNA/test et (d) cytomégalovirus : $4,8 \times 10^5$ cellules/test. La liste des organismes testés est indiquée au Tableau 11.

Tableau 11 : Spécificité analytique

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

(n) = nombre de souches testées.

Tous les organismes testés ont donné un résultat négatif avec le test GC Aptima.

Substances interférentes

Les substances interférentes suivantes ont été ensemencées individuellement dans des échantillons sur écouvillon, dans des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt et/ou dans des échantillons d'urine : sang 10 %, gel contraceptif, spermicide, hydratant, anesthésiant hémorroïdal, huile corporelle, poudre, crème anti-fongique, lubrifiants vaginaux, vaporisateur intime et leucocytes ($1,0 \times 10^6$ cellules/mL). Les substances interférentes suivantes ont été ensemencées individuellement dans des échantillons d'urine : sang 30 %, analytes d'urine, protéines, glucose, cétones, bilirubine, nitrates, urobilinogène, pH 4 (acide), pH 9 (alcalin), leucocytes ($1,0 \times 10^6$ cellules/mL), débris cellulaires, vitamines, minéraux, acétaminophène, aspirine et ibuprofène. Toutes ces substances ont été testées pour une interférence éventuelle au test en l'absence et en présence de GC pour un rRNA estimé équivalent à 50 cellules/test de GC (250 fg/test). Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

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

Récupération

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

Études de la stabilité des échantillons

A. Échantillons sur écouvillon et d'urine

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons endocervicaux, urétraux et vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon ont été obtenues à l'aide d'échantillons sur écouvillon négatifs groupés. Les échantillons groupés ont été enrichis avec GC à une concentration finale d'environ 50 CFU par réaction. Les échantillons enrichis ont été maintenus à -70 °C, à -20 °C, à 4 °C ou à 30 °C. Ces échantillons ont été testés en double aux jours 0, 20, 77 et 117. Toutes les conditions de test étaient positives pour GC pour toutes les durées et températures.

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons d'urine ont été obtenues à l'aide d'échantillons d'urine féminins et masculins négatifs. Les échantillons d'urine ont été enrichis avec GC à une concentration finale de 100 CFU par réaction. Les échantillons ont été maintenus à 30 °C pendant 24 heures avant d'être ajoutés au milieu de transport d'urine (urine transport media, UTM). Les échantillons UTM ont été maintenus à 4 °C et 30 °C et testés en triple aux jours 1, 14, 32 et 35. Les échantillons UTM ont également été conservés à -20 °C et -70 °C et testés en triple aux jours 1, 35 et 109. Tous les réplicats étaient positifs pour GC avec les échantillons UTM maintenus à 4 °C et à -70 °C. Lorsque les échantillons UTM ont été maintenus à 30 °C, 94 % des réplicats étaient positifs pour GC au jour 35. Lorsque les échantillons UTM ont été maintenus à -20 °C, 98 % des réplicats étaient positifs pour GC au jour 109.

B. Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Les données destinées à confirmer les conditions d'expédition et de conservation recommandées pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été obtenues à l'aide d'échantillons de frottis liquides traités et non traités. Pour les échantillons non traités, quatre ensembles d'échantillons groupés de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été testés après avoir été conservés dans le flacon de solutions PreservCyt. Chaque pool d'échantillons a étéensemencé avec 50 à 100 CFU de GC/test, maintenu à 2 °C, à 10 °C et à 30 °C, puis testé au départ et aux jours 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 et 36. Tous les échantillonsensemencés étaient positifs pour GC pour toutes les durées et températures.

Pour les échantillons traités, quatre ensembles d'échantillons groupés de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été utilisés pour déterminer la stabilité des échantillons traités entre 2 °C et 30 °C. Chaque pool d'échantillons négatif a étéensemencé avec 50 à 100 CFU de GC/test, puis testé au départ. Avant le traitement, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été conservés à 30 °C pendant sept (7) jours pour simuler le laps de temps entre la collecte des échantillons, le traitement et l'expédition des frottis dans un laboratoire de tests microbiologiques. Après sept jours à 30 °C, des aliquotes de 1 mL de chaque ensemble ont été transférées dans un tube de transfert d'échantillons Aptima et testées au départ avant d'être placées à 2 °C, à 10 °C et à 30 °C. Les échantillons traités ont été testés après 17 jours de conservation à 30 °C et 36 jours de conservation entre 2 °C et 10 °C. Tous les échantillonsensemencés étaient positifs pour GC pour toutes les durées et températures.

Les données destinées à confirmer les conditions de conservation plus longues ont été obtenues à l'aide de quatre ensembles d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt groupés négatifs traités testés à des températures inférieures au point de congélation. Chaque pool a étéensemencé avec de 50 à 100 CFU de GC/test, puis testé au départ. Chaque ensemble a tout d'abord été placé à 30 °C pendant 14 jours, puis conservé à -20 °C ou à -70 °C sur 106 jours. Tous les échantillonsensemencés étaient positifs pour GC pour toutes les durées et températures.

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

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

Concordance des échantillons cliniques pour le Tigris DTS System

Concordance avec le Tigris DTS System

La concordance entre les résultats du test GC Aptima générés par le Tigris DTS System entièrement automatique et les DTS Systems semi-automatiques a été évaluée en testant les échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, d'urine masculins et féminins, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt. Chacun des échantillons cliniques a été testé individuellement avec le test GC Aptima sur le Tigris DTS System et les DTS Systems chez Hologic. L'ordre des tests n'était pas aléatoire. Les échantillons identifiés pour l'inclusion ont d'abord été testés à l'aide du Tigris DTS System et sur les DTS Systems par la suite.

Étude de la concordance des échantillons cliniques endocervicaux féminins et urétraux masculins sur écouvillon, d'urine masculins et féminins, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt

Des sujets masculins et féminins se rendant dans des cliniques pour ITS, des centres de planification familiale et des gynécologues/obstétriciens de huit sites géographiquement distincts avec des prévalences d'infection à GC s'échelonnant de faibles à élevées ont fourni des échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, d'urine masculins et féminins, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt. Les échantillons ont été transférés directement chez Hologic pour être testés. Chez Hologic, les échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux masculins sur écouvillon et d'urine masculins et féminins ont d'abord été analysés avec le test Aptima Combo 2 sur le Tigris DTS System. Les échantillons vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été analysés avec le test Aptima Combo 2 sur les DTS Systems. Les échantillons dont les résultats définitifs étaient invalides ou équivoques n'ont pas été retenus pour l'étude de la concordance des échantillons cliniques GC Aptima.

Cent vingt-neuf échantillons féminins sur écouvillon (70 endocervicaux et 59 vaginaux), 133 échantillons urétraux masculins sur écouvillon, 72 échantillons d'urine féminins, 130 échantillons d'urine masculins, et 51 échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt avec des résultats positifs et négatifs au test GC Aptima Combo 2 ont été sélectionnés pour des tests comparatifs entre le Tigris DTS System et les DTS Systems avec le test GC Aptima. La majorité des échantillons (88 échantillons féminins sur écouvillon, 93 masculins sur écouvillon, 47 échantillons d'urine féminins, 70 échantillons d'urine masculins et 34 échantillons de frottis en milieu PreservCyt) figurant dans les tests comparatifs provenaient d'individus symptomatiques. Les échantillons ayant des résultats initiaux invalides ou équivoques ont été testés à nouveau à l'aide du même système que celui sur lequel les résultats avaient été obtenus. Trois échantillons d'urine féminins, 1 échantillon vaginal sur écouvillon et 1 échantillon urétral masculin sur écouvillon qui avaient initialement donné des résultats équivoques sur les DTS Systems ont tous donné des résultats valides après un nouveau test. Un échantillon d'urine masculin et 1 échantillon d'urine féminin qui avaient initialement donné des résultats équivoques sur le Tigris DTS System ont donné des résultats valides après un nouveau test.

Le Tableau 12 montre les concordances positives, négatives et globales pour tous les résultats appariés de chaque type d'échantillon selon l'état symptomatique. Bien que les échantillons féminins sur écouvillon (écouvillons endocervicaux et vaginaux combinés) ne soient pas équilibrés par rapport aux échantillons positifs et négatifs des sujets symptomatiques, la concordance globale chez les sujets symptomatiques a été de 100 %, de 97,6 % (40/41) chez les sujets asymptomatiques, et la concordance globale pour « tous » les

sujets (symptomatiques et asymptomatiques combinés) de 99,2 % (128/129). Concernant les échantillons urétraux masculins sur écouvillon, la concordance globale pour les sujets symptomatiques, asymptomatiques et « tous » les sujets était de 100 %. Concernant les échantillons d'urine féminins, la concordance globale pour les sujets symptomatiques était de 100 %, de 96,0 % (24/25) pour les sujets asymptomatiques, et de 98,6 % (71/72) pour « tous » les sujets.

Concernant les échantillons d'urine masculins, la concordance globale pour les sujets symptomatiques était de 98,6 % (69/70), de 100 % pour les sujets asymptomatiques, et de 99,2 % (129/130) pour « tous » les sujets. Concernant les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, la concordance globale pour les sujets symptomatiques, asymptomatiques et « tous » les sujets était de 100 %. En raison du nombre relativement plus petit d'échantillons de sujets asymptomatiques, il est possible que ces conclusions ne s'étendent pas aux tests du Tigris DTS System pour le test GC Aptima avec les échantillons de sujets asymptomatiques.

Se référer au Tableau 4 pour les estimations de la performance du test GC Aptima concernant les échantillons endocervicaux sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, urétraux masculins sur écouvillon et d'urine masculins et féminins et au Tableau 5a pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt testés sur les DTS Systems. Les estimations de la performance clinique pour le Tigris DTS System avec les échantillons endocervicaux sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, urétraux masculins sur écouvillon et d'urine masculins et féminins et de frottis en milieu liquide PreservCyt devraient être similaires compte tenu des résultats concordants.

Tableau 12 : Étude de la concordance des échantillons cliniques : concordance positive, négative et globale par état des symptômes

État des symptômes	Échantillon	Sexe	n	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris-	DTS- Tigris+	DTS- Tigris-	% de concordance positive (IC à 95 %)	% de concordance négative (IC à 95 %)	% de concordance globale (IC à 95 %)
Sympt.	Écouvillon	Femme*	88	55	0	0	33	100 (93,5 - 100)	100 (89,4 - 100)	100 (95,9 - 100)
		Homme	93	66	0	0	27	100 (94,6 - 100)	100 (87,2 - 100)	100 (96,1 - 100)
	Urine	Femme	47	24	0	0	23	100 (85,8 - 100)	100 (85,2 - 100)	100 (92,5 - 100)
		Homme	70	60	1	0	9	98,4 (91,2 - 100)	100 (66,4 - 100)	98,6 (92,3 - 100)
	PreservCyt	Femme	34	28	0	0	6	100 (87,7 - 100)	100 (54,1 - 100)	100 (89,7 - 100)
	Asympt.	Écouvillon	Femme*	41	23	0	1 ¹	17	100 (85,2 - 100)	94,4 (72,7 - 99,9)
Homme			40	7	0	0	33	100 (59,0 - 100)	100 (89,4 - 100)	100 (91,2 - 100)
Urine		Femme	25	9	0	1	15	100 (66,4 - 100)	93,8 (69,8 - 99,8)	96,0 (79,6 - 99,9)
		Homme	60	5	0	0	55	100 (47,8 - 100)	100 (93,5 - 100)	100 (94,0 - 100)
PreservCyt		Femme	17	12	0	0	5	100 (73,5 - 100)	100 (47,8 - 100)	100 (80,5 - 100)

Tableau 12 : Étude de la concordance des échantillons cliniques : concordance positive, négative et globale par état des symptômes (suite)

État des symptômes	Échantillon	Sexe	n	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris-	DTS- Tigris+	DTS- Tigris-	% de concordance positive (IC à 95 %)	% de concordance négative (IC à 95 %)	% de concordance globale (IC à 95 %)
	Écouvillon	Femme*	129	78	0	1 ¹	50	100 (95,4 - 100)	98,0 (89,6 - 100)	99,2 (95,8 - 100)
		Homme	133	73	0	0	60	100 (95,1 - 100)	100 (94,0 - 100)	100 (97,3 - 100)
Tous	Urine	Femme	72	33	0	1	38	100 (89,4 - 100)	97,4 (86,5 - 99,9)	98,6 (92,5 - 100)
		Homme	130	65	1	0	64	98,5 (91,8 - 100)	100 (94,4 - 100)	99,2 (95,8 - 100)
	PreservCyt	Femme	51	40	0	0	11	100 (91,2 - 100)	100 (71,5 - 100)	100 (93,0 - 100)

« + » indique un résultat positif, « - » un résultat négatif, IC = intervalle de confiance.

*Échantillons endocervicaux et vaginaux sur écouvillon combinés.

¹ Un résultat discordant pour les échantillons vaginaux sur écouvillon.

Étude de la précision

Les effets de plusieurs facteurs sur la variabilité de la performance du test GC Aptima sur le Tigris DTS System ont été évalués en utilisant des panels de reproductibilité ITS constitués de 12 membres. Les membres des panels contenaient de 0 à 250 000 fg de rRNA de GC / test. Le panel comportait des membres avec des concentrations de GC d'une sensibilité analytique revendiquée de 250 fg de rRNA GC /test.

Les panels ont été testés dans l'un des sites de test externes et chez Hologic en utilisant deux lots de réactifs de test GC Aptima. Chez Hologic, deux utilisateurs ont effectué chacun 3 listes de travail valides par lot de réactifs sur chacun des 2 appareils Tigris DTS System. Au site de test externe, 2 utilisateurs ont effectué 3 listes de travail valides chacun par lot de réactifs sur 1 appareil Tigris DTS System. Une liste de travail consistait en des témoins de série et six panels de 12 membres. Les échantillons ayant des résultats initiaux invalides ou équivoques n'ont pas été testés à nouveau. Onze échantillons ont donné des résultats finaux invalides et ont été exclus des analyses de reproductibilité.

La reproductibilité a été déterminée en calculant la concordance entre les résultats finaux du test et le résultat attendu pour chaque membre du panel. La reproductibilité a également été évaluée en calculant l'écart-type et le coefficient de variation (CV) du signal selon les sites, les utilisateurs, les lots et les listes de travail. Les CV n'ont pas été calculés pour les membres des panels négatifs à GC en raison des valeurs de signal faibles qui pourraient théoriquement équivaloir à zéro. Le Tableau 13 indique les résultats de reproductibilité. Tous les résultats du test GC Aptima sur le Tigris DTS System concordaient avec les résultats prévus pour les membres du panel contenant 0, 250, 25 000, et 250 000 fg de rRNA de GC / test. Pour les membres du panel contenant 2 500 fg de rRNA de GC /test, la concordance avec les résultats prévus était de 99,8 %. Les valeurs CV étaient inférieures ou égales

à 9,0 %. Ces données indiquent une reproductibilité excellente du test GC Aptima avec le Tigris DTS System.

Tableau 13 : Données de précision pour le Tigris DTS System

Conc. (fg de rRNA par test)	n	RLU moy- enne (x1000)	% Con- cord.	D'un site à l'autre		D'un utilisateur à l'autre		D'un lot à l'autre		D'une liste de travail à l'autre		Dans une même liste de travail	
				SD (x1000)	CV (%)	SD ¹ (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
0	859 ²	4,6	100	1,7	S.O.	0,0	S.O.	0,3	S.O.	0,7	S.O.	2,7	S.O.
250	429 ³	4148	100	236	5,7	170	4,1	212	5,1	94,9	2,3	222	5,3
2500	429 ⁴	5361	99,8	275	5,1	145	2,7	273	5,1	25,1	0,5	482	9,0
25000	430 ⁵	5871	100	325	5,5	163	2,8	303	5,2	106	1,8	176	3,0
250000	431 ⁶	6037	100	317	5,2	167	2,8	303	5,0	126	2,1	186	3,1

Concord. = concordance, Conc. = concentration, CV = coefficient de variation, S.O. = ne s'applique pas aux échantillons négatifs, RLU = unité relative de lumière, SD = écart-type.

¹ Des valeurs SD et CV sont établies à 0 et 0,0 %, respectivement, selon le modèle des effets aléatoires, si la variabilité due à cette source par rapport aux erreurs aléatoires et/ou à la variation d'autres sources est numériquement négative.

² Il y a eu 4 échantillons exclus de cette analyse pour cause de résultats finaux invalides. De plus, il manquait 1 réplicat de chaque membre de panel négatif pour GC dans une liste de travail.

³ Il y a eu 3 échantillons exclus de cette analyse pour cause de résultats finaux invalides.

⁴ Il y a eu 2 échantillons exclus de cette analyse pour cause de résultats finaux invalides. De plus, il manquait 1 réplicat de chaque membre de panel négatif avec 2 500 fg de rRNA de GC/test dans deux listes de travail et 1 liste de travail comportait un réplicat supplémentaire d'un membre du panel avec 2 500 fg de rRNA de GC/test.

⁵ Il y a eu 2 échantillons exclus de cette analyse pour cause de résultats finaux invalides. De plus, une liste de travail comportait 1 réplicat supplémentaire d'un membre du panel avec 25 000 fg de rRNA de GC/test. Il manquait également à cette même liste de travail 1 réplicat d'un autre membre du panel avec 25 000 fg de rRNA de GC/test.

⁶ Il manquait à une liste de travail 1 réplicat d'un membre du panel avec 250 000 fg de rRNA de GC/test.

Remarque : Les échantillons dont les résultats aux tests étaient invalides ont été exclus. L'analyse de variabilité du signal comporte des échantillons avec des résultats discordants.

Rendement analytique du Tigris DTS System

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

Étude de l'équivalence de la sensibilité analytique

Les panels de sensibilité des pools d'échantillons endocervicaux sur écouvillon, des pools d'échantillons vaginaux sur écouvillon, des pools d'échantillons d'urine et des pools d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été préparés avec 250 fg/test de rRNA de GC et 60 réplicats ont été testés sur le Tigris DTS System. Le pourcentage de positivité (IC à 95 %) sur le Tigris DTS System était de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon, de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons vaginaux sur écouvillon, de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons d'urine et de 100 % (95,1 - 100) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.

Étude clinique des panels enrichis avec du rRNA de GC

L'étude clinique des panels enrichis avec du rRNA de GC a permis d'évaluer la concordance entre les deux systèmes en utilisant six panels cliniques de GC préparés par Hologic et enrichis avec de 0 à 250 000 fg de rRNA/test de GC. Les panels cliniques de GC ont été créés avec des échantillons endocervicaux sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, urétraux sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins, d'urine féminins et de frottis en milieu liquide PreservCyt ayant donné des résultats GC Aptima négatifs sur les DTS Systems lorsqu'ils ont été testés chez Hologic. Les échantillons négatifs ont été groupés par type d'échantillon, enrichis ou non enrichis avec du rRNA de GC et aliquotés comme réplicats de chacun des membres du panel. Les réplicats de chacun des 6 membres du panel avec des taux d'enrichissement en rRNA différents ont été combinés de manière à créer un panel clinique de chaque type d'échantillon. Chaque panel contenait un total de 132 réplicats.

Les données initiales des échantillons d'urine masculins et féminins indiquent que certains des membres du panel contenant un taux de rRNA inférieur au seuil de sensibilité analytique revendiqué ont donné des résultats négatifs inattendus sur le Tigris DTS System. Deux études de suivi ont été réalisées pour démontrer et confirmer la concordance avec les résultats attendus dans les panels d'échantillons d'urine masculins et féminins enrichis. Le plan de l'étude original combinait des échantillons négatifs dans un seul pool principal. Le plan de l'étude de suivi pour les échantillons d'urine masculins et féminins a été modifié. Les échantillons ont été aliquotés en mini pools négatifs confirmés pour créer les panels positifs et négatifs. Cent trente-huit réplicats ont été créés pour chaque panel.

Le Tableau 14 indique le pourcentage de concordance de chaque concentration de rRNA dans les panels respectifs des écouvillons endocervicaux, des écouvillons vaginaux, des écouvillons urétraux masculins, des échantillons d'urine masculins, des échantillons d'urine féminins et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt avec les résultats GC attendus pour le Tigris DTS System et les DTS Systems. La concentration s'échelonnait de 1 log en dessous à 3 logs au-dessus de 250 fg de rRNA/test pour GC. Le Tableau 14 indique également les pourcentages de concordance globale de l'étude des panels cliniques entre le Tigris DTS System et les DTS Systems.

Tableau 14 : Étude clinique de la concordance des panels enrichis avec du rRNA de GC

Échantillon	Membre du panel	Concentration (fg de rRNA/test)	Réplicats	% concordance Tigris	% concordance DTS	% de concordance globale entre Tigris et DTS (95 % CI)
	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
	Très faible	25	30	100	100	
	Faible	250	30	100	100	
	Moyen	2500	30	100	100	
	Élevé	250000	30	100	100	
Écouvillon	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
	Très faible	25	29*	100	100	
	Faible	250	30	100	100	
	Moyen	2500	30	100	100	
	Élevé	250000	30	100	100	
	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
	Très faible	25	30	100	100	
	Faible	250	30	100	100	
	Moyen	2500	30	100	100	
	Élevé	250000	30	100	100	
Étude initiale	Sans cible	0	12	100	100	91,7 (85,6 - 95,8)
	Très faible	25	30	63,3 (19/30)	100	
	Faible	250	30	100	100	
	Moyen	2500	30	100	100	
	Élevé	250000	30	100	100	
Urine Homme	Sans cible	0	18	100	100	100 (97,4 - 100)
	Très faible	25	30	100	100	
	Faible	250	30	100	100	
	Moyen	2500	30	100	100	
	Élevé	250000	30	100	100	
Suivi 2	Sans cible	0	18	100	100	100 (97,4 - 100)
	Très faible	25	30	100	100	
	Faible	250	30	100	100	
	Moyen	2500	30	100	100	
	Élevé	250000	30	100	100	

* Non testé sur les deux systèmes en raison du volume insuffisant de l'échantillon

Tableau 14 : Étude clinique de la concordance des panels enrichis avec du rRNA de GC (suite)

Échantillon	Membre du panel	Concentration (fg de rRNA/test)	Réplicats	% concordance Tigris	% concordance DTS	% de concordance globale entre Tigris et DTS (95 % CI)
Étude initiale	Sans cible	0	12	100	100	75,8 (67,5 - 82,8)
	Très faible	25	30	13,3 (4/30)	100	
	Faible	250	30	80 (24/30)	100	
	Moyen	2500	30	100	100	
	Élevé	250000	30	100	100	
Urine Femme	Sans cible	0	18	100	100	99,3 (96,0 - 100)
	Très faible	25	30	96,7 (29/30)	100	
	Faible	250	30	100	100	
	Moyen	2500	30	100	100	
	Élevé	250000	30	100	100	
Suivi 2	Sans cible	0	18	100	100	97,8 (93,8 - 99,5)
	Très faible	25	30	90 (27/30)	100	
	Faible	250	30	100	100	
	Moyen	2500	30	100	100	
	Élevé	250000	30	100	100	
Échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt	Sans cible	0	12	100	100	100 (97,2 - 100)
	Très faible	25	30	100	100	
	Faible	250	30	100	100	
	Moyen	2500	30	100	100	
	Élevé	250000	30	100	100	

* Non testé sur les deux systèmes en raison du volume insuffisant de l'échantillon

Étude de l'équivalence de la spécificité analytique

Pour un test d'amplification de l'acide nucléique, la spécificité analytique concernant les organismes individuels est en grande partie déterminée par la chimie du test (par ex., séquences d'oligonucléotides) plutôt que par la plate-forme. Étant donné que les réactifs du test GC Aptima sont identiques entre le Tigris DTS System et les DTS Systems, les expérimentations de spécificité analytique sur le Tigris DTS System étaient destinées à porter sur les isolats de culture les plus complexes. Parmi ces organismes figuraient ceux qui sont connus pour avoir une réactivité croisée dans d'autres tests d'amplification. Vingt-quatre (24) isolats de culture ont été sélectionnés dans le panel d'organismes du Tableau 11, y compris 17 organismes qui sont très étroitement apparentés à GC. Tous les organismes testés ont donné des résultats négatifs à l'exception d'un résultat faussement positif (1/648). Le cas a été observé avec *C. pneumoniae* où 1 réplicat sur les 27 testés a donné un résultat faux. Les tests de répétition n'ont pas confirmé la réactivité croisée avec cet organisme (*C. pneumoniae*) étant donné qu'aucun test positif n'a été observé avec les 6 réplicats de test supplémentaires.

Étude de l'équivalence des substances interférentes

Le sang total, une substance que l'on trouve couramment dans les échantillons urogénitaux et connue pour interférer avec certains tests d'amplification, a été utilisé pour démontrer que le Tigris DTS System tolère un taux de substances potentiellement interférentes similaire à celui des DTS Systems. Du sang frais a été ajouté aux pools d'échantillons cliniques et vaginaux sur écouvillon, d'urine et de frottis en milieu liquide PreservCyt, puis testés pour rechercher une éventuelle interférence au test en l'absence et en présence de la cible GC avec une concentration de rRNA estimée équivalente à 50 CFU de GC/test (250 fg/test). Les concentrations de rRNA équivalentes ont été calculées d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme. Les échantillons ont été testés sur deux Tigris DTS Systems. Tous les échantillons contenant l'acide nucléique cible étaient positifs lorsqu'ils ont été testés à un taux de sang de 10 % dans les échantillons cliniques sur écouvillon, les échantillons vaginaux sur écouvillon et les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, et à un taux de 30 % de sang dans les échantillons d'urine. Tous les échantillons qui ne contenaient pas la cible étaient négatifs pour GC. Ces résultats indiquent que, aux concentrations testées, le sang total n'affecte vraisemblablement pas les résultats de GC sur le Tigris DTS System.

Études de la contamination de transfert pour le Tigris DTS System

Afin d'établir que le Tigris DTS System minimise les risques de résultats faussement positifs liés à une contamination de transfert, une étude a été réalisée à l'aide de panels enrichis sur trois Tigris DTS Systems. L'étude a utilisé 20 % des échantillons avec une valeur cible élevée contenant $1,0 \times 10^9$ cellules/réaction, qui ont été aléatoirement répartis parmi les 80 % d'échantillons négatifs contenant le milieu de transport de l'écouvillon. Dans l'étude, 576 échantillons avec une valeur cible élevée et 2 376 échantillons négatifs ont été testés sur les trois Tigris DTS Systems. Le Tableau 15 indique que le taux de contamination de transfert global était en moyenne de 0,21 % (5/2370). Au total, 6 échantillons négatifs ont été signalés comme invalides et exclus des calculs. Une analyse distincte a été effectuée sur un sous-ensemble de la population de l'étude constitué des échantillons négatifs testés immédiatement à la suite des résultats positifs avec une valeur cible élevée. Le taux de contamination de transfert de ce sous-ensemble de population était en moyenne de 0,95 % (4/422). Concernant les résultats faussement positifs de ce sous-ensemble, le taux de contamination de transfert variait de 0 % à 2,16 % sur les trois Tigris DTS Systems. Ces résultats indiquent que la contamination est minimisée sur le Tigris DTS System.

Tableau 15 : Résumé de la contamination de transfert globale sur le Tigris DTS System

Appareil	Nbre de tests négatifs valides	Nbre total de résultats GC faussement positifs	% de résultats GC faussement positifs	Intervalles de confiance (IC à 95 %)
Tigris 1	787	0 ^a	0,00	0,00 - 0,38
Tigris 2	791	1 ^b	0,13	0,00 - 0,70
Tigris 3	792	4 ^c	0,51	0,14 - 0,29
Tous les appareils	2370	5	0,21	0,07 - 0,49

^a Aucun résultat GC faussement positif n'a été détecté avec l'appareil Tigris DTS System 1 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.

^b Un résultat GC faussement positif a été détecté avec l'appareil Tigris DTS System 2 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.

^c Trois résultats GC faussement positifs ont été détectés avec l'appareil Tigris DTS System 3 directement après un résultat positif avec une valeur cible élevée.

Rendement analytique du Panther System

Étude de reproductibilité

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

Le Tableau 16 présente, pour chaque membre du panel, les données de RLU pour ce qui est des valeurs moyennes, de l'écart-type (SD) et du coefficient de variation (CV) entre sites, entre lots, entre utilisateurs, entre séries, au sein d'une même série et de manière globale. Le pourcentage de concordance avec les résultats attendus est également présenté. Les échantillons ayant des résultats valides ont été inclus dans les analyses.

Tableau 16 : Données de reproductibilité du Panther System

Membre du panel	Concordants/N	Concord. (%)	RLU moyenne (x1000)	Entre sites		Entre utilisateurs		Entre lots		Entre séries		Dans une même série		Total	
				SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
Négatif	108/108	100	2,1	0,0	0,0	0,0	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	11,9	0,2	12,0
Faible Positif	105/105 ¹	100	926,1	81,2	8,8	0,0	0,0	98,4	10,6	86,2	9,3	361,5	39,0	392,9	42,4
Positif	107/107 ²	100	6196,9	247,5	4,0	23,7	0,4	315,1	5,1	136,5	2,2	187,4	3,0	463,5	7,5

Concord. = concordance, CV = coefficient de variation, N = nombre de membres du panel, SD = écart-type.

¹ Trois résultats invalides ont été exclus de l'analyse.

² Un résultat invalide a été exclu de l'analyse.

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

Étude de sensibilité analytique

La sensibilité analytique du test GC Aptima a été évaluée en utilisant quatre matrices d'échantillons représentatives. Il s'agissait d'échantillons d'urine, d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, d'échantillons vaginaux sur écouvillon et de STM. Les panels ont été créés en ensemençant le rRNA de GC dans des pools de ces matrices à 12,5 CFU/mL et à 125 CFU/mL (25 fg/test et 250 fg/test). Ces panels ont été testés sur trois appareils Panther en réplicats de 60 et en utilisant deux lots de réactifs. La concordance positive avec les résultats attendus a été calculée. La concordance avec les résultats attendus était de 100 % (IC 95 % 95,7 - 100 %) pour tous les panels d'échantillons d'urine, pour tous les panels d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, pour tous les échantillons vaginaux sur écouvillon et pour tous les panels STM. La sensibilité analytique pour le test GC Aptima est de 125 CFU/mL.

Spécificité analytique

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

Substances interférentes

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

Études de contamination par transfert pour le Panther System

Une étude analytique échelonnée a été réalisée en utilisant des panels ensemencés sur trois Panther Systems. La contamination de transfert a été évaluée en répartissant des échantillons avec un titre élevé de GC parmi les échantillons négatifs (environ 20 % du total). Les séries comprenaient des regroupements d'échantillons fortement positifs et des regroupements d'échantillons négatifs ainsi que des échantillons fortement positifs isolés répartis dans la série. Les échantillons à titre élevés étaient préparés en ajoutant du rRNA de GC dans du STM pour obtenir une concentration finale de 5×10^5 fg de rRNA/réaction (conc. équivalente de rRNA de $2,5 \times 10^5$ CFU/mL). L'analyse a été réalisée pour 5 séries sur trois Panther Systems, soit 2 939 échantillons négatifs au total. Le taux de contamination de transfert global était de 0,07 % avec un intervalle de confiance de 95 % de 0,02 à 0,25 %.

Bibliographie

1. **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).
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
3. **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.
4. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrick, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen Processing and Concentration of *Chlamydia trachomatis* Added Can Influence False-Negative Rates in the LCx Assay but Not in the Aptima Combo 2 Assay When Testing for Inhibitors. *J. Clin. Microbiol.* **41**:778-782.
5. **CUMITECH 31.** Verification and Validation of Procedures in the Clinical Microbiology Laboratory.- ASM PRESS, FEBRUARY 1997.
6. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. *J. Clin. Microbiol.* **37**:386-390.
7. **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.
8. **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.
9. **Hook III, E. W. and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal Infections in the Adult. p. 458. In K. Holmes et. al. (eds.) *Sexually Transmitted Diseases*. McGraw Hill, New York, N.Y.
10. **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.
11. **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.
12. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
13. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. NCCLS EP12-A. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline for additional guidance on appropriate internal quality control testing practices.
14. **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).
15. **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.
16. **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.
17. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. Chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* **32**:45-61.
18. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* **298**:540-549.
19. **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.
20. **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.
21. **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.
22. **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.
23. **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.* **37**:74-80.



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



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

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

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

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

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

KOVA-TROL est une marque de commerce de Hycor Biomedical, Inc.

RAININ est une marque de commerce de Rainin Instrument, LLC.

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

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

© 2003–2016 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

502486FR Rev. 001

2016-03